



T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

***ENTEROBACTERALES TÜRLERİNDE KARBAPENEMAZ
ÜRETİMİNİN BD CPO PANEL İLE ARAŞTIRILMASI VE
REAL TIME PCR YÖNTEMİYLE KARŞILAŞTIRILMASI***

Dr. Burak KÜÇÜK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Murat ARAL

KAHRAMANMARAŞ - 2022



T.C.

KAHRAMANMARAŞ ST İMAM ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

***ENTEROBACTERALES TÜRLERİNDE KARBAPENEMAZ
ÜRETİMİNİN BD CPO PANEL İLE ARAŞTIRILMASI VE
REAL TIME PCR YÖNTEMİYLE KARŞILAŞTIRILMASI***

Dr. Burak K

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Murat ARAL

Bu araştırma, 2022 / 3 - 19 kodlu proje olarak Kahramanmaraş St İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

KAHRAMANMARAŞ – 2022

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitim sürecim boyunca her durumda bana destek olan, akademik kimliğinin yanında baba şefkatiyle yaklaşan, hayatıma dair her şeyi paylaşabildiğim, mikrobiyolojiyi ve akademisyenliği sevdiren, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çok sevdiğim çok saygı duyduğum değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Murat ARAL'a,

Asistanlık sürecinde bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Kezban Tülay YALÇINKAYA'ya, Doç. Dr. Özlem KİRİŞÇİ'ye, Dr. Öğretim Üyesi Filiz ORAK'a,

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli asistan arkadaşlarıma, yeri geldiğinde bana öğreten yeri geldiğinde benle beraber öğrenen değerli mikrobiyoloji laboratuvar çalışanlarına,

Bu projenin maddi destekleyicisi Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne,

Hayatı boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve tüm hayatım boyunca destek olan canım anneme,

Bir kardeşten öte arkadaş gibi davranan, her durumda yanımda olan, her şeyimi anlatabildiğim konuşabildiğim değerli abilerim İlhan ve Yavuz'a, değerli eşleri Neslihan ve Cemile'ye, yeğenlerim Duru Neva ve Ömer'e,

İkinci ailem olarak beni oğulları gibi kabul eden değerli kayınvalidem ve kayınpederime, beni aileden bir kardeşi gibi gören Sevda'ya, Serpil'e ve Kemal'e, yeğenlerim Deniz ve Ada'ya,

Bana sürekli destek olan, neşemi ve üzüntümü paylaşabildiğim, varlığıyla hayatıma anlam katan, mutluluk kaynağım, her zaman yanımda olan kıymetli biricik eşim Şeyma'ya,

Son olarak tez sürecinde kaybettiğim, hayatı boyunca bizlerin eğitimi için çalışan çabalayan, hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, bizlere birey olmayı öğreten, sürekli destek olan, hiçbir zaman unutamayacağım canım babama sonsuz kez teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Burak KÜÇÜK

**ENTEROBACTERALES TÜRLERİNDE KARBAPENEMAZ ÜRETİMİNİN BD
CPO PANEL İLE ARAŞTIRILMASI VE REAL TIME PCR YÖNTEMİYLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

(Tıpta Uzmanlık Tezi)

Dr. Burak KÜÇÜK

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

Kasım, 2022

ÖZET

Enterobacterales üyeleri Gram negatif basil morfolojisinde olan geniş bakteri grubudur. Başta idrar yolu enfeksiyonu olmak üzere sepsisemi, enterokolit, pnömoni, yara enfeksiyonu, menenjit gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Karbapenemler, geniş spektrumlu etki gösterebilmeleri nedeniyle yaygın olarak kullanılan beta laktam antibiyotiklerdir. Karbapenemlerin yaygın şekilde kullanılmasıyla son yıllarda artan karbapenem direnci klinisyenlerin elini zora sokmaktadır. Karbapenem direncinin en yaygın görülen şekli karbapenemaz üretimidir. Transpozon ve plazmid aracılığı ile türler arasında aktarılabilen karbapenemazlar Ambler sınıflandırmasında A, B ve D grubunda yer almaktadır. Bu nedenle karbapenemaz üreten türlerin ve üretilen karbapenemaz türünün belirlenmesi, buna bağlı olarak hastaya uygun olan antibiyotiklerin verilmesi tedavi açısından büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızın amacı laboratuvarımıza gelen hasta örneklerinden izole edilen *Enterobacterales* türlerindeki karbapenemaz üretiminin fenotipik yöntemlerden BD CPO panel (NMIC 505) ile belirlenmesi ve bir real time PCR yöntemi olan BD MAX™ CPO ile karşılaştırılmasıdır. Ayrıca çalışmamıza alınan izolatların antimikrobiyal direnç oranlarının özellikle de karbapenem dirençlerinin belirlenmesi, ülkemizde yeni kullanılabilen seftazidim avibaktam duyarlılığının belirlenmesi, kullanılan iki testin maliyet olarak etkin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamıza Ocak 2022 - Ocak 2023 yılları arasında hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kültür örneklerinden izole edilen 71 adet *Enterobacterales* türü dâhil edilmiştir. Gelen kültür örnekleri numune kabulü yapıldıktan sonra

bakteriyoloji biriminde işleme alınmıştır. Kan kültürü örneklerinin kabulü yapıldıktan sonra kan kültür şişeleri BD BACTEC™ FX otomatize sistemi ile 5 gün inkübe edilmiştir. Bu süre içerisinde pozitif veren kan kültür örneklerinin ve gelen diğer kültür örneklerinin %5 KKA, EMB agar ve çukulata agar besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Ekimleri yapılan petriler etüvde 37°C’de 24-48 saat süresince inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda üreyen mikroorganizmalar, mikroskopta koloni morfolojileri Gram boyama ile incelenerek identifikasyon için BD Phoenix™ M50 otomatize sisteme (Becton Dickinson, ABD) yüklenmiştir. Sonuçlar EUCAST kriterlerine göre değerlendirilmiştir. BD Phoenix otomatize sistem NMIC paneline göre “potential carbapenemase producer” olarak tanımlanan karbapenemaz üreticisi olan 71 *Enterobacterales* izolatı çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya alınan izolatlar BD CPO panel (NMIC 505) ve BD MAX™ CPO ile çalışılarak karbapenemaz üretimi belirlenmiştir.

Hastaların demografik özelliklerine bakıldığında yaşları 0-107 arasında değişen 71 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastaların yaş ortalamasının 58, çalışmaya alınan 71 hastanın 40’ının (% 56.3) erkek, 31’inin (% 43.7) kadın olduğu belirlenmiştir. İzole edilen mikroorganizmaların örneklere göre dağılımına bakıldığında kan kültürü, trakeal aspirat kültürü ve yara kültürünün sayıca ön sıralarda yer aldığı görülmektedir. Hastaların kültürlerinde üreyen mikroorganizmaların ADT sonuçlarına bakıldığında 71 izolatın 67’sinin ESBL pozitif olduğu belirlenmiştir. ADT sonuçlarına göre en etkili antibiyotiğin seftazidim avibaktam olduğu görülmektedir. Seftazidim avibaktamın 71 izolatın 63’ünde (% 88.7) duyarlı olduğu belirlenmiştir. Duyarlılık oranları yüksek olan diğer antibiyotiklerin kolistin, gentamisin, tigesiklin, meropenem ve imipenem olduğu belirlenmiştir. Karbapenemler içerisinde en etkili antibiyotiğin meropenem olduğu görülmüştür. Meropenemin 18 izolatla (% 25.3) duyarlı, dört izolatla (%5.6) arttırılmış dozda duyarlı (orta duyarlı), 49 izolatla (% 69) dirençli olduğu belirlenmiştir.

Çalışmaya alınan mikroorganizmaların CPO panel (NMIC-505) sonuçlarına bakıldığında 71 izolatın 48’inin (% 67.8) Ambler sınıflandırmasına göre class D, altısının (% 8.4) Ambler class B, dokuzunun (% 12.6) sınıflandırma yapılmadan karbapenemaz üreticisi olarak “carbapenemase producer” şeklinde raporlandığı belirlenmiştir. İzolatlardan sekizinin (% 11.2) karbapenemaz üretmediği, sonucun negatif olarak sonuçlandığı belirlenmiştir. Çalışmaya alınan izolatların hiçbirinde Ambler A sınıfı karbapenem direnci raporlanmamıştır. Moleküler yöntem olarak BD MAX™ CPO kiti kullanılarak çalışmaya alınan izolatlarda dört direnç geni (KPC,

NDM, VIM/IPM, OXA-48) bakılmıştır. Çalışmaya alınan mikroorganizmaların hiçbirinde KPC ve VIM/IPM direnç geni pozitif bulunmamıştır. 71 izolatın 60'ının (% 84.5) OXA-48 direnç geni pozitif, yedisinin (% 9.8) hem OXA-48 hem NDM direnç geni pozitif, dördünün (% 5.6) ise tüm direnç genleri negatif olarak bulunmuştur.

İki yöntem kıyaslandığında CPO panel ile class D olarak raporlanan 48 izolatın; moleküler yöntemde 43'ünün OXA-48, ikisinin hem OXA-48 hem NDM ürettiği belirlenmiştir. Üç izolatta hiçbir direnç geni pozitif bulunmamıştır. CPO panel ile çalışılarak class B olarak raporlanan altı izolatın; dördünün hem OXA-48 hem NDM ürettiği, birinin sadece OXA-48 pozitif olduğu belirlenmiştir. Bir izolatın sonucu negatif olarak raporlanmıştır. CPO panelde “carbapenemase producer” olarak raporlanan dokuz izolatın; sekizinin OXA-48 ürettiği, birinin hem OXA-48 hem NDM ürettiği belirlenmiştir. CPO panel sonuçlarına göre karbapenemaz üretmediği tespit edilen sekiz izolatın tamamında OXA-48 direnç geni pozitif bulunmuştur.

Karbapenem grubu antibiyotikler özellikle *Enterobacterales* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu durum karbapenem direnç oranlarında artış ile sonuçlanmaktadır. Karbapenem grubu antibiyotikler kullanılırken daha dikkatli olunmalı, akılcı antibiyotik kullanım ilkelerine uygun hareket edilmelidir. Dirençli enfeksiyonların yaygınlaşmasının önlenmesi için enfeksiyon kontrol önlemlerine özen gösterilmelidir. Özellikle transpozon ve plazmid aracılığıyla geçiş gösteren karbapenem direnç genleri saptanmasıyla karbapenemaz tespitinde kullanılan fenotipik ve moleküler yöntemler önem kazanmıştır. Kullanılacak yöntemin fenotipik yöntemler gibi kolay uygulanabilir ve ucuz, moleküler yöntemler gibi net sonuçlar vermesi gereklidir. Çalışmamızda kullanılan CPO panel incelendiğinde aynı anda hem ADT hem Ambler sınıflandırmasına göre karbapenemaz tayini yapabilmesi yöntemin avantajları arasında yer almaktadır. Ayrıca ADT paneli tüm panellerde bulunmayan seftazidim avibaktam, tobramisin, seftolozan tazobaktam, ofloksasin gibi antibiyotikleri de içermektedir. Sonuç olarak çalışmasının kolay olması, aynı gün içerisinde hem karbapenemaz hem ADT sonucu vermesi, moleküler yöntemle göre ucuz olması, yetkin personel gerektirmemesi, yeni nesil antibiyotikler içermesi CPO paneli kullanılabilir kılmaktadır. Ancak birden fazla gen bölgesi içeren türlerde yetersiz kalması, özgüllüğünün düşük olması, normal panellere göre maliyetinin yüksek olması gibi dezavantajları mevcuttur.

CPO panel ile alınan negatif sonuçların moleküler yöntemlerle doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: CPO panel, *Enterobacterales*, karbapenemaz, PCR

Sayfa Sayısı: 76

Danışman: Prof. Dr. Murat ARAL



**INVESTIGATION OF CARBAPENEMASE PRODUCTION IN
ENTEROBACTERALES SPECIES WITH BD CPO PANEL AND COMPARISON
WITH REAL TIME PCR METHOD**

(Specialization Thesis in Medicine)

Dr. Burak KÜÇÜK

KAHRAMANMARAS SUTCU IMAM UNIVERSITY

FAKULTY OF MEDICINE

November, 2022

ABSTRACT

Enterobacterales is a large group of bacteria with Gram-negative bacillus morphology. It causes infections such as septicemia, enterocolitis, pneumonia, wound infection, meningitis, especially urinary tract infection. Carbapenems are beta-lactam antibiotics that are widely used because of their broad-spectrum effects. Carbapenem resistance, which has increased in recent years with the widespread use of carbapenems, puts clinicians in a difficult position. The most common form of carbapenem resistance is the production of carbapenemase. Carbapenemases that can be transferred between species via transposon and plasmid are in A, B and D groups in Ambler classification. For this reason, determining the carbapenemase producing species and the produced carbapenemase species, and accordingly administering appropriate antibiotics to the patient is of great importance in terms of treatment. The aim of our study is to determine carbapenemase production in *Enterobacterales* species isolated from patient samples coming to our laboratory with the BD CPO panel (NMIC 505), one of the phenotypic methods, and to compare it with BD MAXTM CPO, a real time PCR method. In addition, it was aimed to determine the antimicrobial resistance rates, especially the carbapenem resistance, of the isolates included in our study, to determine the susceptibility to ceftazidime avibactam, which can be used in our country, and to determine whether the two tests used are cost-effective.

71 *Enterobacterales* species isolated from the culture samples sent to the microbiology laboratory of our hospital between January 2022 and January 2023 were included in our study. Incoming culture samples were processed in the bacteriology unit

after sample acceptance. After the blood culture samples were accepted, the blood culture bottles were incubated with the BD BACTEC™ FX automated system for 5 days. During this period, positive blood culture samples and other culture samples were inoculated on 5% sheep blood agar, EMB agar and chocolate agar media. The planted petri dishes were incubated in an oven at 37°C for 24-48 hours. At the end of this period, the growing microorganisms were loaded on the BD Phoenix™ M50 automated system (Becton Dickinson, USA) for identification by examining their colony morphology by Gram staining under the microscope. Results were evaluated according to EUCAST criteria. 71 *Enterobacterales* isolates, which are carbapenemase producers defined as “potential carbapenemase producer” according to the BD Phoenix automated system NMIC panel, were included in the study. Carbapenemase production was determined by studying the isolates included in the study with the BD CPO panel (NMIC 505) and BD MAX™ CPO.

Considering the demographic characteristics of the patients, 71 patients aged between 0-107 were included in the study. It was determined that the mean age of the patients was 58, 40 (56.3%) of the 71 patients included in the study were male, and 31 (43.7%) were female. Considering the distribution of isolated microorganisms according to the samples, it is seen that blood culture, tracheal aspirate culture and wound culture are in the forefront. When the ADT results of the microorganisms grown in the cultures of the patients were examined, it was determined that 67 of 71 isolates were ESBL positive. According to ADT results, it is seen that the most effective antibiotic is ceftazidime avibactam. Ceftazidime avibactam was found to be susceptible in 63 (88.7%) of 71 isolates. It was determined that other antibiotics with high sensitivity rates were colistin, gentamicin, tigecycline, meropenem and imipenem. Among the carbapenems, the most effective antibiotic was found to be meropenem. Meropenem was found to be susceptible in 18 (25.3%) isolates, susceptible (intermediate) in four isolates (5.6%), and resistant in 49 (69%) isolates.

Considering the results of the CPO panel (NMIC-505) of the microorganisms included in the study, 48 (67.8%) of 71 isolates were classified as class D according to Ambler classification, 6 (8.4%) Ambler class B, and nine (12.6%) as carbapenemase producer without classification. was reported as. It was determined that eight of the isolates (11.2%) did not produce carbapenemase and the result was negative. Ambler class A carbapenem resistance was not reported in any of the isolates included in the

study. Four resistance genes (KPC, NDM, VIM/IPM, OXA-48) were examined in the isolates included in the study using the BD MAXTM CPO kit as a molecular method. KPC and VIM/IPM resistance genes were not positive in any of the microorganisms included in the study. Of the 71 isolates, 60 (84.5%) were found to be OXA-48 resistance gene positive, seven (9.8%) both OXA-48 and NDM resistance gene positive, and four (5.6%) all resistance genes were negative.

When the two methods were compared, 48 isolates reported as class D by the CPO panel; it was determined that 43 of them produced OXA-48 and two of them produced both OXA-48 and NDM in the molecular method. No resistance gene was found positive in three isolates. Six isolates reported as class B by working with the CPO panel; It was determined that four of them produced both OXA-48 and NDM, and one of them was positive for only OXA-48. The result of one isolate was reported as negative. Nine isolates reported as “carbapenemase producer” in the CPO panel; it was determined that eight of them produced OXA-48 and one of them produced both OXA-48 and NDM. The OXA-48 resistance gene was found to be positive in all eight isolates that were found not to produce carbapenemase according to the CPO panel results.

Carbapenem group antibiotics are widely used especially in the treatment of infections caused by Enterobacterales species. This results in an increase in carbapenem resistance rates. Care should be taken when using carbapenem group antibiotics, and the principles of rational antibiotic use should be followed. Infection control measures should be taken care of in order to prevent the spread of resistant infections. Phenotypic and molecular methods used in the detection of carbapenemases have gained importance, especially with the detection of carbapenem resistance genes that are transmitted through transposon and plasmid. The method to be used should give clear results like molecular methods, which are easy to apply and cheap like phenotypic methods. When the CPO panel used in our study is examined, it is among the advantages of the method that it can determine carbapenemase according to both ADT and Ambler classification at the same time. In addition, the ADT panel includes antibiotics such as ceftazidime avibactam, tobramycin, ceftolozane tazobactam, and ofloxacin, which are not included in all panels. As a result, the fact that it is easy to work with, gives both carbapenemase and ADT results in the same day, is cheaper than the molecular method, does not require competent personnel, and contains new generation antibiotics makes the CPO panel usable. However, there are disadvantages

such as being insufficient in species containing more than one gene region, low specificity, and high cost compared to normal panels. Negative results obtained with the CPO panel need to be confirmed by molecular methods.

Keywords: Carbapenemase, CPO panel, *Enterobacterales*, PCR

Number of Pages: 76

Advisor: Prof. Dr. Murat ARAL



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Enterobacterales	3
2.1.1. Genel Özellikler	3
2.1.2. Taksonomi	3
2.1.3. Morfolojik, Metabolik ve Kültür Özellikleri.....	4
2.1.4. Antijenik Yapıları.....	5
2.1.5. Virülans Faktörleri	6
2.1.6. Yaptıkları Hastalıklar ve Epidemiyoloji.....	7
2.1.7. Bakteriyolojik Tanı, Tedavi ve Kontrol	7
2.2. Beta Laktam (β -Laktam) Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları.....	8
2.2.1. Beta Laktam Antibiyotikler	8
2.2.2. Direnç Mekanizmaları	9
2.3. Beta Laktamazlar (β -Laktamazlar).....	11
2.3.1. Beta Laktamazların Fonksiyonel Olarak Sınıflandırılması	12
2.3.2. Beta Laktamazların Yapısal Olarak Sınıflandırılması.....	13
2.4. Karbapenemler	15
2.4.1. Karbapenemlerin Antibakteriyel Etki Spektrumu	15
2.4.2. Karbapenemlerin Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri.....	16
2.4.3. Karbapenemlerin Klinik Kullanım Alanları.....	17
2.4.4. Karbapenemlerin Yan Etkileri.....	17
2.4.5. Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları	17
2.5. Karbapenemazlar	18
2.5.1. Sınıf A Karbapenemazlar	20
2.5.2. Sınıf B Karbapenemazlar (Metallo-Beta-Laktamazlar)	21

2.5.3. Sınıf D Karbapenemazlar	23
2.6. Karbapenem Direncinin ve Karbapenemazların Saptanması	24
2.6.1. Karbapenemazların Fenotipik Yöntemlerle Saptanması	24
2.6.2. Karbapenemazların Moleküler Yöntemler Kullanılarak Saptanması	27
2.7. Karbapenemaz Üreten <i>Enterobacterales</i> Türlerinde Yeni Antibiyotiklerin Kullanımı	28
2.7.1. Seftazidim Avibaktam	28
2.7.2. Meropenem Vaborbaktam	28
2.7.3. İmipenem Relebaktam	29
2.7.4. Sefiderokol	29
3. GEREÇ YÖNTEM	30
3.1. Örneklem Büyüklüğünün Belirlenmesi	31
3.2. BD CPO Panel (NMIC-505) ile Numunelerin Çalışılması	31
3.3. BD MAX TM CPO Testi ile Numunelerin Çalışılması	32
3.4. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	50
7. KAYNAKLAR	51
8. TABLOLAR DİZİNİ	60
9. ŞEKİLLER DİZİNİ	61

KISALTMALAR LİSTESİ

ABC	: ATP Binding Casette
ADT	: Antimikrobiyal Duyarlılık Testi
ARI	: <i>Acinetobacter</i> Rezistant İmipenem
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
ECA	: <i>Enterobacteriaceae</i> Common Antigen
EDTA	: Etilendiaminetetraasetik asit
EMA	: Avrupa İlaç Kurumu
EMB	: Eozin Metilen Blue Agar
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç İdaresi
GES	: Guiana Extended Spectrum
GIM	: German Imipenemase
GSBL	: Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamaz
IMP	: Active Against İmipenem, İmipenemase
KIA	: Kligler Iron Agar (Kligler'in demirli besiyeri)
KKA	: Koyun Kanlı Agar
KPC	: <i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
MALDI-TOF	: Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time of Flight
MATE	: Multidrug and Toxic Compound Extrusion
MBL	: Metallo-beta-laktamazlar
MFS	: Major Facilitator Superfamily
MIK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NAG	: N-asetilglukozamin
NAM	: N-asetilmuramik asit
NDM	: New Delhi Metallo-Beta-Lactamase
NMC/IMI	: Not Metalloenzyme Carbapenemase/İmipenem Hydrolyzing Beta Lactamase

PBP	: Penisilin Bağlayan Proteinler
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RND	: Resistance Nodulation Division
SIM	: Seoul Imipenemase
SME	: <i>Serratia marcescens</i> Enzyme
SPM	: Sao Paulo metallo-beta-lactamase
SS Agar	: <i>Salmonella Shigella</i> Agar
TSI	: Triple Sugar Iron (Üç şekerli besiyeri)
VIM	: Verona Integron-Encoded Metallo-Beta-Lactamase
Zn⁺²	: Çinko

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Enterobacterales üyeleri Gram negatif basil morfolojisinde olan geniş bakteri grubudur. Özellikle bağırsak florası başta olmak üzere insan vücudunda yaygın olarak bulunabilmektedir. Başta idrar yolu enfeksiyonu olmak üzere sepsisemi, enterokolit, pnömoni, yara enfeksiyonu, menenjit gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Toplum ve hastane kökenli enfeksiyonlara neden olabilen *Enterobacterales* içerisinde 50'den fazla cins 100'den fazla tür bulunmaktadır. Özellikle hastane kökenli enfeksiyonlardaki antibiyotiklere karşı olan yüksek direnç oranları tedavide zorluk çekilmesine neden olmaktadır (1, 2).

Karbapenemler, geniş spektrumlu etki gösterebilmeleri nedeniyle yaygın olarak kullanılan beta laktam antibiyotik grubudur. Özellikle *Enterobacterales* türlerinde görülen AmpC ve genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üretiminde tedavide son seçenek olarak karbapenemler kullanılmaktadır. Son yıllarda karbapenemlerin yaygınlaşması ile artan karbapenem direnci, klinisyenleri zor durumda bırakmaktadır. Karbapenem direncinin en yaygın görülen şekli karbapenemaz üretimidir. Karbapenemazlar sadece karbapenemleri değil, beta laktam antibiyotiklerin büyük kısmını da hidrolize edebilmektedir. Genellikle penisilinleri, sefalosporinleri, karbapenemleri ve monobaktamları hidrolize edebilme yetenekleri vardır. Karbapenemazlar Ambler sınıflandırmasında A, B ve D grubunda yer almaktadır. Bu nedenle karbapenemaz üreten türlerin ve üretilen karbapenemaz türünün belirlenmesi, buna bağlı olarak hastaya uygun olan antibiyotiklerin verilmesi tedavi açısından büyük önem taşımaktadır (3, 4).

Karbapenemazların tespitinde kullanılan birçok yöntem mevcuttur. Fenotipik yöntemler yaygın olarak kullanılmakla birlikte moleküler yöntemler de kullanılabilmektedir. Moleküler yöntemler karbapenemazların tanımlanmasında altın standart yöntemler olarak bilinmektedir. Ancak moleküler yöntemlerinin maliyetlerinin yüksek olması, bilgi ve ekipman gerektirmesi, tüm laboratuvarlarda yaygın olarak uygulanamaması gibi dezavantajları mevcuttur. Bu nedenle fenotipik yöntemler daha fazla tercih edilmeye başlanmıştır. Kullanılacak fenotipik yöntemlerin maliyetinin düşük olması, kısa zamanda uygulanabilmesi, kolayca uygulanabilir olması ve en önemlisi duyarlılık ve özgüllük oranlarının yüksek olması gerekmektedir (4, 5).

Çalışmamızın amacı laboratuvarımıza gelen hasta örneklerinden izole edilen *Enterobacterales* türlerindeki karbapenemaz üretiminin fenotipik yöntemlerden BD CPO panel (NMIC 505) ile belirlenmesi ve bir real time PCR yöntemi olan BD MAX™ CPO ile karşılaştırılmasıdır. Bunun yanında çalışmada kullanılan türlerin karbapenem direncinin yanı sıra seftazidim avibaktam ve diğer antimikrobiyal ajanlara duyarlılıklarının test edilmesi ve iki testin maliyet etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enterobacterales

2.1.1. Genel Özellikler

Enterobacterales üyeleri özellikle insan bağırsak florasında yaygın olarak bulunan, Gram negatif boyama özelliği gösteren, basil morfolojisinde büyük bir bakteri topluluğudur. Ortak özelliklerine bakıldığında Gram negatif boyanmaları, aside dirençli boyanmamaları, spor oluşturmamaları, fakültatif anaerob olmaları, glukoz fermantasyonu yapmaları, katalaz pozitif olmaları, oksidaz negatif olmaları (*Plesimonas* hariç), nitrati nitrite indirgeyebilmeleri sayılabilmektedir. *Enterobacterales* takımı içinde yer alan bakteriler doğada toprakta, suda, bitkilerde, insan ve birçok hayvanın bağırsak florasında yaygın şekilde bulunmaktadır (1).

İnsanlarda yaptıkları hastalıklara bakıldığında insan vücudunda birçok farklı sistemde enfeksiyona neden olabilirler. İdrar yolu enfeksiyonlarının çok büyük kısmı ve intestinal enfeksiyonların birçoğu *Enterobacterales* takımı üyelerinin neden olduğu enfeksiyonlardır. Bazı üyeler daima patojen özellikte olmalarına (*Salmonella serotip Typhi*, *Shigella spp.*) karşın bazıları normal florada da (*Esherichia coli*, *Klebsiella spp.* vs) bulunarak fırsatçı enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Etken mikroorganizmanın neden olduğu hastalıklar taşıyıcı bir hayvandan (*Salmonella spp.*, *Yersinia pestis* vs.), endojen floradan (*Klebsiella spp.*, *E.coli* vs.) ya da taşıyıcı bir insandan (*Salmonella serotip Typhi* vs.) köken alabilmektedir (6).

2.1.2. Taksonomi

Enterobacterales takımında 40 civarında cins ve 150'den fazla tür bulunmaktadır. *Enterobacterales* takımındaki bakterilerin sınıflandırılmasında geçmişte biyokimyasal özellikler ön planda tutulmuştur. Ancak günümüzde özellikle moleküler yöntemlerin gelişmesi ile genotipik ve fenotipik özellikler dikkate alınarak yeni sınıflandırma yöntemleri oluşmuştur. Moleküler yöntemlerle birlikte birçok bakterinin mevcut olan sınıflandırılması değiştirilmiştir. Son olarak 2016 yılında *Enterobacteriaceae* ailesi içerisinde yer alan *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Serratia*, *Yersinia*, *Erwinia*, *Pantoea* ve *Hafnia* gibi cinsler, yapılan taksonomik bir çalışma sonrasında

Enterobacterales takımına dahil edilmiştir (7). Bütün bu gelişmelere rağmen hala sınıflandırılmayan türler de mevcuttur. *Enterobacterales* takımına ait üyelerin bazıları Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. *Enterobacterales* takımındaki üyeler

Familya	Cins	Türler
<i>Escherichiae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. blatae</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. fergusonii</i> , <i>E. hermannii</i>
	<i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. boydii</i> , <i>S. sonnei</i>
<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	<i>E. tarda</i> , <i>E. hoshina</i> , <i>E. ictaluri</i>
<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S. typhi</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>S. paratyphi A</i> , <i>S. enteridis</i> , <i>S. gallinarum</i> , <i>S. pullorum</i>
<i>Citrobacteriaceae</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii</i> , <i>C. diversus</i> , <i>C. amalonaticus</i>
<i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i> , <i>K. ozanae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>K. rhinoscleromatis</i> , <i>K. planticola</i> , <i>K. terrigena</i> , <i>K. omithinolytica</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. agglomerans</i> , <i>E. amnigenus</i> , <i>E. sakazakii</i> , <i>E. gergoviae</i>
	<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i> , <i>S. lique</i> , <i>S. liquefaciens</i> , <i>S. rubidaea</i>
<i>Proteeae</i>	<i>Proteus</i>	<i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. pennei</i> , <i>P. myxofaciens</i>
	<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i>
	<i>Providencia</i>	<i>P. alcalifaciens</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. rustigianii</i>
<i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i> , <i>Y. pestis</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>Y. frederiksenii</i> , <i>Y. kristensenii</i> , <i>Y. intermedia</i> , <i>Y. ruckeri</i> , <i>Y. aldovae</i>
<i>Erwinieae</i>	<i>Erwinia</i>	<i>E. amylovora</i> , <i>E. carotovora</i>

2.1.3. Morfolojik, Metabolik ve Kültür Özellikleri

Enterobacterales üyeleri eni 0.3-1 µm, boyu 0.6-6 µm boyutlarında Gram negatif basil morfolojisinde olan aerob ya da fakültatif anaerob bakterilerdir. Genel olarak Gram boyamada homojen olarak boyanırlar. Katalaz testleri pozitifdir. Oksidaz testleri

negatiftir. Spor oluşturmazlar. Bazıları hareketsiz olmasına karşın (*Klebsiella*, *Shigella* vs.) büyük kısmı hareketlidir. Nitratı nitrite indirgeyebilirler. Optimum üreme sıcaklıkları 35-37°C olarak kabul edilmektedir (2, 6).

Kültürde üreme özelliklerine bakıldığında laboratuvarında kullanılan rutin besiyerlerinde rahatlıkla üreyebilirler. Sıvı besiyerinde kısa bir zaman içerisinde (8-12 saat) bulanıklık oluştururlar. Rutin laboratuvarında kullanılmakta olan %5 Koyun Kanlı Agar (KKA), Eozin Metilen Blue Agar (EMB), MacConkey Agar besiyerlerinde kolaylıkla üretilebilirler. Kapsüllü türler mukoid (M tipinde) koloniler oluşturmaktadır. Türüne bağlı değişmekle beraber KKA besiyerinde şeffaf, zeminden kabarık, hemoliz oluşturabilen zeminden kabarık koloniler oluştururken, EMB besiyerinde yeşil, pembe mukoid koloniler, MacConkey besiyerinde siyah koloniler oluşturabilirler. Kültür için tür düzeyinde tanımlama yapılmasını kolaylaştırmak amacıyla zenginleştirilmiş besiyerleri bulunmaktadır. Bu besiyerleri belirli özellikleri dikkate alarak seçilen mikroorganizmayı ayırt etmeyi kolaylaştırmaktadır. Örnek verecek olursak *Salmonella-Shigella* Agar (SS besiyeri) bakterileri laktozu fermente etme özelliklerine göre ayırt ederek *Salmonella* ve *Shigella* türlerinin kolayca ayırt edilmesini sağlamaktadır. Triple Sugar Iron (TSI) besiyerinde asit oluşturarak renk değişimine yol açarlar (2, 6).

2.1.4. Antijenik Yapıları

Enterobacterales üyeleri taşıdıkları antijenik yapılar vasıtasıyla yüksek virulans potansiyeline sahiptirler. Bu antijenik yapılar aynı zamanda bu bakterilerin sınıflandırılmasında da kullanılabilmektedir. Bu antijenlerden bazıları; somatik antijen (O), kirpik antijeni (H), kapsül antijeni (K) ve tüm türlerde yaygın şekilde bulunan ECA (*Enterobacteriaceae* Common Antijen)'dır. ECA tüm bakterilerin hücre duvarındaki lipopolisakkarit tabakanın derin kısmında bulunan antijendir. En önemli antijenik yapı hücre duvarında bulunan endotoksin olarak işlev gören lipopolisakkarit tabakadır. Bu tabaka dışta O polisakkariti, bütün türlerde bulunan kor polisakkariti ve endotoksin aktivitesinden sorumlu olan Lipid A kısmından oluşur. Kor polisakkariti türlerin *Enterobacterales* olarak tanımlanmasında, O polisakkariti bakterinin içinde bulunduğu türün epidemiyolojik sınıflandırılmasında kullanılmaktadır (8, 9).

Epidemiyolojik sınıflandırma yapılırken *Enterobacterales* türlerinde üç antijen grubu büyük önem taşımaktadır. Bunlar; somatik O antijeni, flagella H antijeni ve kapsüldeki K antijenidir. Somatik O antijeni alkole, asitlere ve ısıya dayanıklılığı

sağlamaktadır. H antijeni flagella ya da kirpikleri olan türlerde yer almakta olup bu organelle bağlıdır. Protein yapısındaki H antijeni ısı, alkol ve asit ile inaktive olabilmektedir. Polisakkarit yapısındaki K antijeni kapsülü olan türlerde kapsülde, kapsülü olmayan türlerde ise O antijeninin dış kısmında bulunur. Bazı *Salmonella* ve *Citrobacter* türlerinde yüzey antijeni niteliğinde kapsül antijeni yerine hücre duvarının dış yüzeyini kaplayan Vi antijeni bulunur. Bu antijen O antijeninin dış kısmını kaplayarak özgül anti serumlarla olabilecek reaksiyonu önler (8, 9).

2.1.5. Virülans Faktörleri

Enterobacterales türlerinde çeşitli virülans faktörleri tanımlanmıştır. Virülans özellikleri bakterilerin taşıdıkları antijenik yapı ile ilişkilidir. Endotoksinler, ekzotoksinler, adhezinler, kapsül yapısı, antijenik varyasyonlar, çoğalma faktörlerinin salınması, tip III sekresyon sistemleri, antimikrobiyal etkenlere karşı direnç virülans faktörlerinden bazılarıdır (1, 2, 9).

Endotoksin: Endotoksin, bazı anaerob ve aerob Gram negatif bakterilerde bulunan virülans faktörüdür. Toksin özelliği taşıyan bu yapı bakterilerin oluşturduğu sistemik yanıtların (ateş, titreme vs.) sorumlusudur. Aynı zamanda bakterinin dış ortam şartlarından (deterjanlar, tuzlar, boyalar) korunmasında da görev almaktadır. Üç kısımdan oluşur: Lipid A, kor proteini ve O antijeni. Endotoksin aktivitesinden asıl sorumlu olan kısım Lipid A kısmıdır (2, 8, 9).

Ekzotoksin: Protein yapıda olan, mikroorganizma tarafından sekresyon sistemiyle ortama salınan biyoaktif moleküllerdir. Toksin özelliği olan hedef hücrelere etki gösteren, özgül fizyolojik etkileri bulunan oldukça güçlü yapılardır (2, 8, 9).

Adhezinler ve Kapsül: Adhezinler, *Enterobacterales* türlerinin çoğunda bulunan hücre yüzeyine tutunmayı, hücrenin içerisine girmeyi kolaylaştıran, hücrenin fagositozdan korunmasına yardımcı yapılardır. Kapsül yapısı bakteriyi fagositozdan korumakla beraber bakterinin dış ortam şartlarına dayanıklı olmasını sağlar. *K.pneumoniae* suşlarının en önemli virülans faktörü bakteride bulunan polisakkarit yapıdaki kapsülüdür. Mukoid tipte koloni oluşumuna da yol açan bu kapsül yapısı yaklaşık 70 farklı antijenik yapıda olabilmektedir. Adhezin ve kapsül dışında bazı bakterilerin dış yapısında fimbriya ve pilus adı verilen oluşumlar bulunur. Protein yapıdaki bu yapılar bakterinin bulunduğu ortama tutunmasını, ortamda hareket edebilmesini sağlar. Pilus

yapısı aynı zamanda bazı bakterilerde genetik materyal geçişine olanak sağlayarak antimikrobiyal direnç konusunda da yer alır (2, 8, 9).

E.coli için birçok farklı virulans faktörü tanımlanmış olup bunların bazı genetik materyaller aracılığı ile geçişi (bakteriyofaj ve plazmid) gösterilmiştir. Enteroaggregatif ısıya dayanıklı toksin (EAST), plazmid tarafından kodlanan toksin (Pet), ısıya duyarlı toksin, ısıya dayanıklı toksin, Shiga benzeri toksin ve hemolizin oluşturduğu ekzotoksinlerden bazılarıdır (1, 2, 8, 9).

2.1.6. Yaptıkları Hastalıklar ve Epidemiyoloji

Tüm dünyada yaygın şekilde bulunan *Enterobacterales* türleri toprakta, suda, bitkilerde, hayvanlarda ve insanlarda gastrointestinal sistem florasında yaygın şekilde bulunmaktadır. Florada bulunan bazı türler hastanın immün durumuna göre fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Birçok enfeksiyona neden olan *Enterobacterales* türleri özellikle sepsisemi olgularının ve idrar yolu enfeksiyonlarının büyük kısmından sorumludur. Yatan hastalarda oluşan nazokomiyal enfeksiyonlarının etkeni olabilirler. Bu hastalıklar dışında gastroenterit, pnömoni, enterokolit, abse, menenjit, yara enfeksiyonu gibi birçok hastalığa neden olabilmektedir. *Enterobacterales* türleri enterik ve bağırsak dışı patojen olmak üzere sınıflandırılabilir. Enterik patojenlere bakıldığında *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Providencia* türleri bu etkenlerden bazılarıdır. *Hafnia*, *Citrobacter*, *Edwardsiella* gibi nadir görülen türler de enfeksiyon etkeni olabilmektedir. En önemli bulaş kaynağı olarak fekal oral yol gösterilmiştir. *Shigella* türleri dışında birçok *Enterobacterales* türü bağırsak dışı enfeksiyonlarda da rol oynamaktadır. *Yersinia pestis* veba, *Salmonella* türleri tifo ve paratifo gibi sistemik enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Bunlar dışında kemik ve eklem enfeksiyonları, pnömoni gibi akciğer enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, abse ve yumuşak doku enfeksiyonlarına da neden olabilirler (2, 10).

2.1.7. Bakteriyolojik Tanı, Tedavi ve Kontrol

Enterobacterales türleri laboratuvarında kullanılan rutin besiyerinde rahatlıkla üretilmektedir. Koyun kanlı agarda S tipi koloniler oluştururken bazı türler beta hemoliz de yapabilir. EMB agarda laktozu fermente edebilen türler renkli koloniler oluştururken, laktoz negatif türler (*Salmonella*, *Shigella*) renksiz şeffaf koloniler

oluşturmaktadır. Değerlendirme yapılırken mikroskopik değerlendirme ile besiyerinde olan üremeler birlikte değerlendirilmelidir. Kolonilerin oluşmasından sonra tür düzeyinde tanımlama için konvansiyonel yöntemler, otomatize sistemler ya da moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Tanımlamada en çok kullanılan yöntemlerden birisi asit oluşumunun belirlenmesidir. Üç şekerli besiyeri (TSI) ya da Kligler'in demirli besiyeri (KIA) bu amaçla kullanılabilir. Ayrıca tanımlamada IMVIC testleri de kullanılabilir. Otomatize sistemlere baktığımızda Vitek, BD Phoenix, Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time of Flight (MALDI-TOF) gibi ticari sistemler mevcuttur. Moleküler yöntemlerden Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) sıklıkla kullanılan yöntemlerdendir (2, 9).

Enterobacterales türlerinin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi gün geçtikçe zorlaşmaktadır. Ampirik olarak yaygın kullanılan antibiyotikler normal floradaki mikroorganizmaları öldürerek etken mikroorganizmaların daha dirençli hale gelmesine yol açmaktadır. Altta yatan bir nedenin bulunması (invaziv girişimsel işlemler, üriner kataterin bulunması, diyabet vs.) dirençli mikroorganizmaların enfeksiyon oluşturmaya yatkınlık sağlamaktadır. Bu nedenle etkenin tür düzeyinde tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinin (ADT) çalışılması büyük önem taşımaktadır. Ayrıca bazı bakterilerin bazı antimikrobiyallere doğal direnç geliştirmiş olduğu bilinmektedir. Tüm bu nedenler tedavi planlanırken klinisyenleri zor durumda bırakmaktadır. Son yıllarda en çok kullanılan karbapenem grubu antibiyotiklere (meropenem, imipenem, ertapenem) yüksek oranda direnç geliştiği bildirilmektedir. Bazı ülke ve kurumlarda karbapenemler gibi ilk sıra olmayacak ilaçların ampirik olarak kullanılması kısıtlanmıştır. Bu ilaçların gereksiz kullanılması özellikle hastane ortamında dirençli mikroorganizmaların gelişmesine neden olmuştur. Nozokomiyal enfeksiyon etkenlerinin ilaç direnç oranları toplum kökenli enfeksiyon etkenlerinden çok daha yüksek hale gelmiştir (2, 9).

2.2. Beta Laktam (β -Laktam) Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları

2.2.1. Beta Laktam Antibiyotikler

Beta laktam antibiyotikler yapısında birisi azot, üçü karbon olmak üzere dört üyeli laktam halkası taşıyan antibiyotiklerdir. Azot elementinin β karbonuna bağlanmasından dolayı bu ismi almıştır. Beta laktam grubu antibiyotikler hücre duvar sentezini

önleyerek etki gösteren geniş bir antibiyotik grubudur. Kimyasal yapısında β -laktam grubunu ortak olarak taşıyan β -laktam grubu antibiyotikler; penisilinler, karbapenemler, sefalosporinler, monobaktamlar, beta laktamaz inhibitörleri olmak üzere beş gruba ayrılır. Bu ayrımı sağlayan yapılar beta laktam halkasına bağlı yan zincirler ve diğer ortak olmayan kimyasal yapılardır (11, 12).

Bakterilerde hücre duvarı önemli bir yapıtaşıdır. Bu nedenle bakteri hücrelerinin hücre duvar sentezini engelleme antibiyotiklerin etki mekanizmalarının başında gelmektedir. Hücre duvarındaki en önemli yapıtaşı peptidoglikan tabakasıdır. Peptidoglikan tabakası 10-65 disakkarit ünitelerinden oluşan, N-asetilmuramik asit (NAM) ve N-asetilglukozamin (NAG) moleküllerinin tekrarlanarak oluşturduğu bir zincir yapısındadır. Peptid bağları ile bu zincirlerin birbirine bağlanmasıyla sağlam, hücreyi çevreleyen bir yapı oluşmaktadır. Zincirlerin ve çapraz bağların oluşması için birtakım özel enzimler gereklidir. Transpeptidazlar, transglikozilazlar, karboksipeptidazlar bu enzimlerden bazılarıdır. Serin proteaz ailesinde yer alan bu enzimler aynı zamanda Penisilin Bağlayan Proteinler (PBP) olarak da bilinirler. PBP'ler beta laktam antibiyotiklerin temel hedefidir. Hücre duvar sentezi aşamasında PBP'lere bağlanarak hücre duvar sentezini önlerler. Peptidoglikan zincirlerinin ve çapraz bağların oluşması engellenirse hücre, birtakım intraselüler ve ekstraselüler sinyaller vasıtasıyla apoptoza sürüklenir ve canlılığını kaybeder. Bu nedenle beta laktam antibiyotikler genellikle bakterisidal etki gösterirler (11, 12).

2.2.2. Direnç Mekanizmaları

Beta laktam halkası taşıyan antibiyotiklerin hastane ya da toplum kökenli enfeksiyonlarda yaygın şekilde kullanılması bu antibiyotiklere karşı olan direnç oranlarını artırmıştır. Mikroorganizmalarda hem Gram pozitiflerde hem Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında kullanılan beta laktam antibiyotiklere farklı mekanizmalar sonucunda direnç gelişimi görülmektedir. Bu mekanizmalar; beta laktamaz üretimi ile ilaç aktivasyonunun önlenmesi, PBP'lerde değişiklik (hedef bölge değişimi), azalmış ilaç geçirgenliği ve hücre içindeki ilacın hücre dışına atılması sonucunda olabilir (13).

Beta Laktamaz Aracılığıyla İlaç İnaktivasyonu: Tüm Gram negatif bakterilerde olduğu gibi *Enterobacterales* türlerinde de gelişen beta laktam antibiyotik direncinin temel mekanizması beta laktamaz üretimidir. Beta laktamazlar laktam halkasındaki amid bağlarını yıkan hidrolitik enzimlerdir. Amid bağlarının yıkılmasıyla bu

antibiyotikler etkisiz hale gelmekte ve mikroorganizmaların direnç oranları yükselmektedir (13, 14). İlk defa 20. yüzyılın ikinci çeyreğinde *Staphylococcus* türlerinde tanımlanan beta laktamazlar, günümüzde birçok Gram negatif ve Gram pozitif mikroorganizmalarda ve mikobakterilerde bulunmaktadır. Beta laktamaz aracılığı ile olan ilaç inaktivasyonu, beta laktam direncinin en fazla görülen şeklidir. Beta laktamazlar, Gram pozitif bakterilerde direkt olarak hücre dışına salınırlar. Gram negatif bakterilerde periplazmik aralık adı verilen boşluğa salınarak etki gösterirler. Kromozomal ya da plazmid aracılığı ile kodlanan beta laktamazların, mobil genetik parçacıklar aracılığı ile bir bakteriden diğer bakteriye geçtiği de gösterilmiştir (13, 14).

Hedef Bölge Değişiklikleri: Beta laktam antibiyotiklerin hedef bölgesi PBP'lerde olabilecek değişiklikler ilaçların duyarlılığında değişikliğe yol açabilmektedir. Bu mekanizma genelde Gram pozitif bakterilerde ilaç direncine yol açsa da tüm bakterilerde görülebilmektedir. Hedef bölge değişikliği farklı mekanizmalar aracılığıyla olabilmektedir. Bunlardan birisi *S.aureus* suşlarında görülen PBP'lerin aşırı miktarda üretilmesi ile ilişkili metisilin direnci oluşmasıdır. Bu mekanizma fazla görülmemektedir. Başka bir mekanizma Beta laktam antibiyotiklerin bağlandıkları PBP'lerin yerine ilaçlar tarafından düşük afinite gösterilen yeni PBP'lerin sentezidir. *S.aureus* suşlarında mecA kromozomal geni tarafından PBP2 ve PBP3 yerine düşük afiniteli PBP2a sentezlenmektedir. Bu da bakterinin metisiline dirençli olmasını sağlamaktadır. Bir diğer mekanizma duyarlı bir PBP'nin daha dirençli bir PBP ile kombinasyonunun oluşturulmasıdır. *Streptococcus pneumoniae* suşlarında görülen bu penisilin direnci bu mekanizmaya bir örnektir. Bu direnç, viridans *Streptococcus* türlerinde penisilin direncini kodlayan DNA segmentlerinin *S.pneumoniae* suşlarına transforme olması sonucu görülür. Mozaik genler olarak tanımlanan bu genler bakterinin dirençli hale gelmesini sağlar. Mekanizmalar içerisinde bir diğeri nokta mutasyonlar aracılığı ile gerçekleşen PBP'lerde beta laktamlara olan afinitenin azalmasıdır. Bu mekanizma özellikle *Enterococcus faecium* türlerinde görülür (11, 12, 14).

Azalmış Geçirgenlik ve İlacın Hücre Dışına Atılması: Beta laktam antibiyotiklerin direnç mekanizmalarından birisi azalmış geçirgenlik sonucu antibiyotiklerin hücre içine alınmasındaki güçlülüdür. Beta laktam antibiyotikler etki gösterirken ilacın hücre içine alınması porin adı verilen membrandaki protein yapıdaki kanallar aracılığıyla olmaktadır. Porin kaybı ya da bu kanalların yapısında görülen değişiklikler hücrenin

beta laktam antibiyotiklere karşı dirençli olmasına neden olmaktadır. Bu mekanizma genellikle Gram negatif bakterilerde beta laktamaz üretimi ile birlikte görülmektedir. Özellikle *K.pneumoniae* ve *Enterobacter spp.* suşlarında görülen beta laktam direnci bu mekanizma sonucu görülmektedir. Aynı şekilde *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında görülen imipenem direncinin OprD porininde mutasyon sonucu meydana geldiği gösterilmiştir (10, 13).

Beta laktam antibiyotiklere direnç mekanizmalarından birisi de hücre içine alınan ilacın hücre dışına atım pompaları aracılığıyla atılmasıdır. Bu sayede hücre içinde ilacın yoğunluğu azaltılarak etkinliği azaltılmaktadır. Günümüzde tanımlanan birçok bakteriyel atım pompası sistemi mevcuttur. Major facilitator superfamily (MFS), resistance nodulation division (RND), ATP binding cassette (ABC), multidrug and toxic compound extrusion (MATE) bunlardan bazılarıdır. Özellikle RND Gram negatif bakterilerde yaygın görülen atım sistemlerinden biridir (10, 13).

2.3. Beta Laktamazlar (β -Laktamazlar)

Özellikle Gram negatif bakterilerde görülen beta laktam antibiyotik direnci, beta laktamazlarla ilişkilidir. Beta laktamazlar, beta laktam antibiyotiklerin amid bağlarını hidrolize ederek etki gösterirler. Beta laktamazlar penisilinleri, sefalosporinleri, karbapenem ve monobaktamları parçalayarak etkilerini kısıtlayabilirler. Bakterilerin beta laktamaz sentezi kromozomal, plazmid ya da transpozonlar aracılığı ile olabilmektedir. Gram pozitif bakterilerdeki beta laktamaz enzimi bakteri tarafından hücre dışına salınarak etki göstermektedir. Gram negatif bakterilerde ise enzim periplazmik aralıkta bulunmaktadır. Bu nedenle antibiyotiğin hücre içi konsantrasyonunu azaltabilecek etkenler ilaç direncinde daha fazla önem taşımaktadır. 1928 yılında penisilinin Alexander Fleming tarafından keşfinden sonra Abraham ve Chain 1940 yılında bir Gram negatif bakteri olan *E.coli*'den elde ettikleri enzimin penisilini parçaladığını göstermişlerdir. Bu enzime “penisilinaz” ismi verilmiştir (12, 15, 16).

Özellikle moleküler tekniklerdeki gelişmeler beta laktam antibiyotiklerin dirençleri ile ilgili daha fazla bilgi edinilmesini sağlamıştır. Tanımlanan birçok direnç geni ve protein dizi analizleriyle birlikte beta laktamazların sınıflandırılması yapılabilmektedir. Beta laktamazlar sınıflandırılırken fonksiyonel ya da yapısal

özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Yapısal sınıflandırma daha objektif veriler sunmasıyla, daha kolay yapılabilmesiyle ön plana çıksa da hasta kliniği açısından fonksiyonel sınıflandırma da değerlidir. Fonksiyonel sınıflandırma sayesinde klinisyenler farklı beta laktam antibiyotiklerin farklı direnç profillerini yorumlayarak hasta için en uygun olan antibiyotikleri seçme fırsatı yakalayabilmişlerdir (12, 15, 16).

2.3.1. Beta Laktamazların Fonksiyonel Olarak Sınıflandırılması

Bush, Jacoby ve Medeiros isimli araştırmacılar 1905 yılında beta laktamazların yapısal özelliklerinden ziyade inhibitör duyarlılığı ve substrat profili gibi fonksiyonel özelliklerine göre sınıflandırılmasını önermişlerdir. Bu sınıflandırma günümüzde halen yaygın şekilde kullanılmaktadır. 2010 yılında güncellemesi yapılan fonksiyonel sınıflandırma şu şekildedir (17-19):

Grup 1 Sefalosporinazlar: Yapısal sınıflandırmaya göre Ambler C sınıfında bulunan bu gruptaki beta laktamazlar fonksiyonel sınıflandırmada birinci grupta yer alırlar. *Enterobacterales* ailesinde yaygın şekilde görülürler. Penisiline kıyasla sefalosporinlere etkileri daha fazladır. Sefamisin grubundan sefoksitin ve sefotetanları, oksaminocefalosporin grubundan sefoksitini hidrolize edebilirler. Ambler A sınıfını etkileyen beta laktamaz inhibitörlerinden (klavulonik asit, tazobaktam, sulbaktam) etkilenmezler (17-19).

Grup 2 Serin β -Laktamazlar: En geniş beta laktamaz içeren gruptur. Yapısal sınıflandırmada yer alan Ambler A ve D grubunu kapsamaktadır. Kendi içlerinde etki gösterdikleri antibiyotiklere, beta laktamaz inhibitörleriyle (klavulanik asit ve tazobaktam gibi) inhibisyon özelliklerine göre gruplara ayrılırlar. Bu grupta yer alanların belki de en önemlisi Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) grubudur (grup 2be). Penisilinleri, sefotaksim ve seftazidimi de içeren sefalosporinleri, oksimino-beta laktamlardan aztreonamı da içeren geniş bir antibiyotik grubunu hidrolize edebilirler. Özellikle hastane enfeksiyonlarında rol alan *Enterobacterales* türlerinde yaygın şekilde görülürler. Çoklu ilaç direnci gösteren plazmidler aracılığı ile türler arası geçiş yapabilirler. Klavulanik asitle inhibisyona uğramaları tanımlama amacıyla mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (17-19).

Grup 3 Metallo-beta-laktamazlar: Yapısal sınıflandırmada Ambler B grubunda yer alırlar. Enzimatik aktivite gösteren bölgelerinde çinko içerirler. Karbapenemleri

hidrolize edebilirler. Klasik beta laktamaz inhibitörleriyle (klavulanik asit ve tazobaktam gibi) inhibe olmayıp dipikolinik asit, etilendiaminetetraasetik asit (EDTA) ve 1,10-o-phenanthroline gibi metalleri şelasyona uğratan maddelerle inhibe olurlar (17-19).

2.3.2. Beta Laktamazların Yapısal Olarak Sınıflandırılması

Beta laktamazların yapısal sınıflandırılmasında en sık kullanılan Ambler sınıflandırmasıdır. Bu sınıflandırmada aminoasit dizilerine göre beta laktamazlar A, B, C ve D olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır. B grubu metallo-beta-laktamazlar (MBL) olarak bilinirken diğer üç gruptan farklı olarak aktif bölgelerinde çinko iyonu taşımaktadır. Diğer gruptaki beta laktamazlar aktif bölgelerinde serin aminoasiti taşımaktadır. Yapısal benzerlik açısından dört grup birbirinden ciddi şekilde farklıdır (20, 21).

Ambler Sınıf A: Serin grubu beta laktamazlardandır. Bakterilerdeki kodlanması kromozomal ya da plazmid aracılı olabilmektedir. Penisilinazlar ve genişletilmiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) bu grubun iki ana üyesidir.

Ambler Sınıf B: Çoğu karbapenemaz aktivitesi de taşıyan, aktif bölgelerinde çinko iyonu bulunduran metallo-beta-laktamazlardır.

Ambler Sınıf C: Beta laktamaz inhibitörlerine duyarlı olmama özellikleriyle sınıf A'dan ayrılırlar. Aktif bölgelerinde serin taşırlar. Kromozomal olarak AmpC bölgesinde kodlandığı için AmpC sınıfı beta laktamazlar olarak bilinirler. Genel olarak karbapenemlere ya etki göstermezler ya da sınırlı etki gösterirler. Gram negatif basiller tarafından yaygın olarak üretilirler.

Ambler Sınıf D: Genellikle bir plazmid aracılığıyla kodlanırlar. Oksasilini yaygın bir şekilde hidrolize edebilirler. Aktif bölgelerinde serin bulunur. En bilineni ülkemizde de yaygın olarak görülen OXA-48'dir (20, 21).

Tablo 2. Bakteriye beta laktamazların sınıflandırılması (17)

Bush- Jacoby- Medeiros grubu (1995)	Bush- Jacoby grubu (2009)	Moleküler sınıf (Ambler) (alt sınıf)	Ayrılcı substratlar	İnhibe edenler KA/TZB	EDTA	Tanımlayıcı Özellikler	Tipik Enzimler
1	1	C	Sefalosporinler	H	H	Sefalosporinler benzilpenisilinlerden daha fazla hidrolize olur	<i>E. coli</i> Amp C,P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
DE	1e	C	Sefalosporinler	H	H	Seftazidim ve sıklıkla diğer oksimino- beta - laktamların artmış hidrolizi	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penisilinler	E	H	Benzilpenisilinler sefalosporinlerden daha fazla hidrolizi	PC1
2b	2b	A	Penisilin, erken sefalosporinler	E	H	Benzilpenisilin ve sefalosporinlerin benzer hidrolizi	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	E	H	Oksimino- beta - laktamların (sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefepim, aztreonam) artmış hidrolizi	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penisilinler	H	H	Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktama direnç	TEM-30, SHV-10
DE	2ber	A	Genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	H	H	Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktama dirençle beraber oksimino- beta -laktamların artmış hidrolizi	TEM-50
2c	2c	A	Karbenisilin	E	H	Karbenisilin artmış hidrolizi	PSE-1, CARB-3
DE	2ce	A	Karbenisilin, sefepim	E	H	Karbenisilin, sefepim ve seftpiromun artmış hidrolizi	RTG-4
2d	2d	D	Kloksasilin	Değişken	H	Kloksasilin ve oksasilinin artmış hidrolizi	OXA-1, OXA-10
DE	2de	D	Genişletilmiş spektrumlu sefalosporin	Değişken	H	Kloksasilin veya oksasilin ve oksimino- beta- laktamları hidrolize eder	OXA-11, OXA-15
DE	2df	D	Karbapenemler	Değişken	H	Kloksasilin veya oksasilin ve karbapenemleri hidrolize eder	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler	E	H	Sefalosporinleri hidrolize eder. Klavulanik asit ile inhibe olur ama aztreonam ile olmaz	CepA
2f	2f	A	Karbapenemler	Değişken	H	Karbapenemler, oksimino-beta-laktamlar ve sefamisinlerin artmış hidrolizi	KPC-2, IMI-1, SME-1
3	3a	B(B1)	Karbapenemler	H	E	Karbapenemleri içeren ancak monobaktamları içermeyen geniş spektrumlu hidroliz	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1 L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3	3b	B(B3)	Karbapenemler	H	E	Karbapenem hidrolizine yakınlık	CphA, Sfh-1
4	DE	Bilinmeyen					

KA: Klavulanik asit, TZB: Tazobaktam, EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit, E: Evet, H: Hayır, DE: Dahil edilmemiş

2.4. Karbapenemler

Günümüzde yaygın kullanılan karbapenemler, penisilin ve sefalosporinler gibi PBP'ye bağlanarak etki gösteren beta laktam antibiyotiklerdendir. Geniş etki spektrumu göstermesi sayesinde enfeksiyon hastalıklarında yaygın şekilde kullanılmaktadır. GSBL ve AmpC beta laktamazlarına direnç göstermelerinden dolayı bu enzimleri üreten Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında tedavide ilk seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır (10, 22).

Karbapenemlerin yapısı penisilinlere benzerlik göstermektedir. İlk kez 1976 yılında *Streptomyces cattleya* tarafından üretilen thienamycin maddesindeki amino ve hidroksil gruplarında değişiklikler yapılmasıyla karbapenemler oluşturulmuştur. Penisilinlerden ayrılan özellikleri birinci pozisyonda yer alan karbon atomu yerine sülfür içermeleri ve halka yapısındaki ikinci ve üçüncü pozisyonda yer alan karbon arasındaki bağın doymamış olmasıdır. Hidroksiasetil grubundaki trans konfigürasyonunun farklı olması karbapenemlerin beta laktamazlara dirençli olmalarının nedenidir. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından karbapenemler yeni bir sınıflandırmayla karbapenemler ve panemler olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Panem grubunda yer alan faropenem, bu gruptaki tek antibiyotiktir. Karbapenemlerden farklı olarak birinci pozisyonda yer alan karbon atomu yerine sülfür bulundurmaktadır. Yaygın kullanılan meropenem, imipenem ve ertapenem dışında doripenem, panipenem, biapenem, faropenem isimli karbapenemler bulunmaktadır (10, 22).

2.4.1. Karbapenemlerin Antibakteriyel Etki Spektrumu

Antibiyotikler içinde en geniş etki spektrumuna sahip olan karbapenemler, başta Gram pozitif ve Gram negatif olmak üzere aerob ve anaerob birçok bakteriye etki göstermektedir. Gram pozitif bakterilerden penisilin dirençli ya da duyarlı *S.pneumoniae*, *S.agalactiae*, *S.pyogenes*, metisilin duyarlı *Staphylococcus* türleri, anaerob Gram pozitif koklar, *Listeria monocytogenes* karbapenemlerin etki gösterdiği bakterilerden bazılarıdır. *Enterococcus faecalis* suşlarına eğer penisilin direnci yoksa bakteriyostatik olarak etki göstermektedirler. İmipenem, ertapenem ve meropeneme göre Gram pozitif bakterilere karşı daha iyi etki göstermektedir (10, 22, 23).

Enterobacterales türleri üzerinde etkili olan karbapenemler, *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. gibi fermente etmeyen bakteriler ile beta-laktamaz üreten *H. influenzae* ve *N. gonorrhoeae* gibi bakteriler üzerinde de etkili olmaktadır. *Mycobacterium avium intracellulare* de karbapenemlerin etki spektrumunda yer almaktadır. Anaerob bakterilerden *B.fragilis*, *C.difficile* dışındaki *Clostridium* türlerine, *Fusobacterium* türlerine etkilidirler. Penisilin dirençli *E.faecium*, metisilin direnci gösteren *Staphylococcus* türleri, *C.difficile*, *B.cepacia*, *S.maltophilia*, *Chlamydia* ve *Mycoplasma* türleri ise karbapenemlerin etki gösteremediği bakteriler arasında yer almaktadır (10, 22, 23).

Etki spektrumu açısından bakıldığında karbapenemler arasında bazı farklılıklar mevcuttur. Ertapenem, meropenem ve imipenem kıyasla nonfermenter bakterilere etki göstermemesiyle diğerlerinden ayrılmaktadır. Bu ayrılma sonucu karbapenemler etki spektrumu açısından bazı gruplara ayrılmıştır. İlk grupta yer alan ertapenem ve pamipenem daha çok toplumsal kökenli enfeksiyonlarda kullanılmakla beraber nonfermenter etkisi bulunmamaktadır. İkinci grupta yer alan meropenem, imipenem, doripenem gibi karbapenemler nonfermenter bakterilere de etki gösterdiklerinden dolayı hastane enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Üçüncü ve son grupta yer alan henüz geliştirme aşamasında olan karbapenemler için nonfermenter etkilerinin yanında artırılmış MRSA aktivitesi mevcuttur (22).

2.4.2. Karbapenemlerin Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri

İmipenem ve meropenem mide asidine duyarlı olması nedeniyle intravenöz olarak kullanılabilir. Ertapenemin yüksek oranda proteinlere bağlanabilmesi nedeniyle yarı ömrü uzun olup hem intravenöz hem de intramuskuler olarak kullanılabilir. İmipenem, meropenem ve ertapenemin üçü de böbreklerden glomeruler filtrasyon yoluyla atılmaktadır. İmipenem böbrek tübüllerinde dihidropeptidaz enzimiyle yıkıma uğramaktadır. Bu yüzden imipenem bir dihidropeptidaz inhibitörü olan silastatin ile kullanılmaktadır. Meropenem ve ertapenemin yapısal farklılıkları nedeniyle dihidropeptidaz enzimine dirençli olmasından dolayı silastatin ile kullanılmasına gerek yoktur (23).

2.4.3. Karbapenemlerin Klinik Kullanım Alanları

Karbapenemler, geniş spektrumlu olmalarından dolayı hayatı tehdit eden polimikrobiyal etkenli enfeksiyonlarda diğer beta laktam antibiyotiklere direnç varsa ilk seçilecek antibiyotik grubudur. Üriner sistem enfeksiyonları, alt solunum yolu enfeksiyonları, bakteriyel menenjit, eklem ve kemik enfeksiyonları, jinekolojik enfeksiyonlar, bakteriyel sepsisler, yara ve yumuşak doku enfeksiyonları, bakteriyel endokarditler karbapenemlerin klinik kullanım alanları arasında yer almaktadır (22, 23).

Hastane kökenli alt solunum yolu enfeksiyonlarında özellikle Gram negatif bakterilerde görülen artmış direnç oranları nedeniyle ve enfeksiyonların mortal seyretmesi nedeniyle karbapenemler tedavi seçenekleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Meropenem, özellikle BOS'a geçişinin yüksek olması sebebiyle bazı ülkelerde menenjit şüphesinde seftriakson ve vankomisin yerine tek ilaçlı tedavi seçeneği olarak kullanılabilir. Özellikle karın içi enfeksiyonların polimikrobiyal olduğu için karbapenemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle Gram negatif osteomyelit enfeksiyonlarında ve düşük riskli nötropenik hastalarda ayaktan parenteral olarak uygulanabilmesi nedeniyle ertapenem avantajlı bir karbapenemdir (22, 23).

2.4.4. Karbapenemlerin Yan Etkileri

Genel olarak iyi tolere edilen karbapenemlerin toksisitesi azdır. Karaciğer enzimlerinde yükselme, bulantı, kusma, ishal, tromboflebit gibi yan etkileri az da olsa görülebilmektedir. Renal yetmezliği olan hastalarda yüksek dozda kullanılması sonucu merkezi sinir sisteminde toksik etkilere yol açarak konvülsiyonlara neden olabilmektedirler. Merkezi sinir sisteminde görülen bu yan etkiler daha çok imipenem kullanılmasıyla görülmekle beraber meropenemin bu yan etkisi daha azdır (22).

2.4.5. Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları

Enterobacterales türlerinde görülen beta-laktam antibiyotiklerin direnç oranlarının artması ile karbapenemler sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Son yıllarda karbapenemlerin sık kullanılmasıyla karbapenem direnç oranlarında artış görülmektedir. Karbapenem direnci, *Enterobacterales* türlerinde aşağıdaki mekanizmalar aracılığı ile görülebilmektedir:

- a) Karbapenemleri hidrolize eden karbapenemaz genlerinin kazanılması

- b) Beta laktamazlara ek olarak porin ekspresyonundaki azalmaya bağlı karbapenemlerin hücre içi konsantrasyonunda azalma
- c) Eflüks pompaları aracılığıyla karbapenemlerin hücre dışına atılması (24).

Porin Ekspresyonundaki Değişimler: Gram negatif bakterilerde hücre zarında bulunan porin adı verilen spesifik proteinler hücre zarının seçici geçirgen olarak davranmasında aktif olarak rol almaktadır. *Enterobacterales* türlerinde yer alan porinler OmpC ve OmpF porin ailelerine aittir. Bu porinlerin sayısındaki ya da aktivitesindeki azalmalar karbapenemlere olan direnç artışında rol oynamaktadır. Porin sentezindeki mutasyonlar porinlerin tiplerinin değişmesine ya da aktivitesinin azalmasına bağlı karbapenem dirençlerinde artışa neden olabilmektedir. Ayrıca porin değişiklikleri bulunan bakterilerde beta laktamaz sentezlenmesiyle birlikte beta laktam direnci daha da artmaktadır. Beta laktam direnci görülen *K.pneumoniae* suşlarında bulunan OmpK35, OmpF grubuna ait bir porindir. OmpK35'in mutasyona uğramasıyla OmpK36 ya da OmpK37 ile yer değiştirmesi sonucu kanal genişliği azalmakta, buna bağlı olarak da beta laktam direnci ciddi oranda artmaktadır (25).

Aktif Pompaların İndüklenmesi: Karbapenemlerin tedavisindeki direncin artması ilaçların hücre içine alınmasının azalmasından kaynaklanabileceği gibi hücre dışına bazı pompalar aracılığı ile atılması ile de gerçekleşebilmektedir. Özellikle Gram negatif bakterilerde görülen pompa sistemleri genellikle RND ailesine aittir. Tek bir pompa sisteminin sonucu olarak birçok ilaca direnç kazanılabilmektedir. Bunun sonucu olarak çok ilaca dirençli fenotipler görülebilmektedir. *Enterobacterales* üyesi olan *E.aerogenes* türlerinde görülen AcrAB RND ailesine ait bir dışa atım pompası türüdür. AcrAB ekspresyonundaki artışla birlikte imipenem direnciyle birlikte florokinolonlara, tetrasiklinlere ve kloramfenikollere karşı da direnç kazanılabilmektedir. Diğer *Enterobacterales* suşlarında da buna benzer şekilde dışa atım pompalarının görülmesi özellikle karbapenem direncinde ciddi artışa yol açmıştır (26).

2.5. Karbapenemazlar

Enterobacterales türlerinde karbapenemlere görülen direnç mekanizmalarından en sık rastlanana karbapenemaz üretimidir. Karbapenemazlar sadece karbapenemleri değil, beta laktam antibiyotiklerin büyük kısmını hidrolize edebilmektedir. Genellikle penisilinleri, sefalosporinleri, karbapenemleri ve monobaktamları hidrolize edebilme

yetenekleri vardır. Bu yeteneklerinin yanında beta laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezler. Geçmişte tüm karbapenemazların kromozomal olarak kodlandığı düşünülmekteyken plazmid aracılığıyla üretilen karbapenemazların keşfedilmesi bu düşüncenin değişmesine yol açmıştır. Bu süreçte metallo-beta-laktamazlardan IMP-1'in *P.aeruginosa* türlerinde, sınıf D karbapenemaz olan OXA-23'ün *A.baumannii* türlerinde, Ambler sınıf A'da bulunan KPC-1'in plazmid aracılığı ile kodlandığı belirlenmiştir. Plazmid aracılığıyla karbapenemazların yayılmasıyla direnç durumları klonal olmaktan çıkmakla birlikte farklı türler arasında direnç aktarımının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu nedenle karbapenemaz üreten türlerin belirlenmesi ve uygun tedavinin verilmesi epidemiyolojik açıdan büyük önem taşımaktadır (3, 27, 28).

Karbapenemazların sınıflandırılmasında beta laktamazların sınıflandırılması gibi moleküler ve fonksiyonel sınıflandırmalar kullanılmaktadır. Karbapenemazlar moleküler sınıflandırmada Ambler sınıflandırmasının A, B ve D gruplarında yer almaktadır. Fonksiyonel sınıflandırmada ise beta laktamazların fonksiyonel sınıflandırmasının alt gruplarından üçünde yer almaktadır. Bu gruplar; 2f, 2df ve 3'tür. Ambler sınıflandırmasına göre A ve D grubunda yer alan karbapenemazlar aktif bölgelerinde serin içermekteyken, B grubunda yer alan karbapenemazlar aktif bölgelerinde çinko atomu içermektedir. Bu nedenler B grubu karbapenemazlar metallo-beta-laktamaz olarak adlandırılmaktadır. Ambler sınıflandırmasına göre C grubunda yer alan beta laktamazlar karbapenemlere karşı zayıf etki gösterdiklerinden dolayı karbapenemaz olarak adlandırılmamaktadır (4).

Tablo 3. Karbapenemazların sınıflandırılması (4)

Ambler Sınıflandırması	<u>Sınıf A</u>	<u>Sınıf B</u>	<u>Sınıf D</u>
Görüldüğü bölgeler	İngiltere, ABD	Hindistan, Japonya	Ortadoğu ve Türkiye
Kromozomal	KPC, GES	NDM	-
Plazmid aracılı	SME, NmCA	IMP-1, IMP-2	OXA-23, OXA-48
Aktif bölge	Serin	Çinko	Serin
İnhibitörleri	Boronik asit	Dipikolinik asit, EDTA	-
Beta-laktamlara etkisi	Monobaktamlar dahil hepsine etkili	Monobaktamlar dışında tüm beta laktamlara etkili	Karbapenemlere karşı zayıf ancak oksasilin ve kloksasiline etkili
Modifiye Hodge Testi	Pozitif	Değişken	Pozitif

2.5.1. Sınıf A Karbapenemazlar

Ambler sınıflandırmasında A grubunda yer alan karbapenemazlar, fonksiyonel sınıflandırmada Grup 2f içerisinde yer almaktadır. Aktif bölgelerinde serin taşımakla beraber penisilinleri, sefalosporinleri ve monobaktamları hidrolize edebilmektedir. Klavulonik asit ve tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörleri ile kısmen de olsa inhibe olabilmektedirler. A grubu karbapenemazlar ilk olarak 1980’li yılların başında tanımlanmıştır. KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) enziminin 1996 yılında ABD’de saptanmasıyla ve 2000’li yıllarda tüm dünyaya yayılımının gösterilmesiyle A grubu karbapenemazlar global ölçekte önem kazanmıştır. Bu gruptaki karbapenemazları üreten türler imipeneme artmış direnç gösterirler. Bazı türlerde ise imipenem dirençli saptanmayıp MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerleri daha yüksek görülmektedir. Bu yüzden rutin testlerle saptanması zor olan A grubu karbapenemazları saptamak için özel test yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (29).

A sınıfı karbapenemazlar üç ana gruba ayrılmaktadır. Bunlar; KPC, NMC/IMI (not metalloenzyme carbapenemase/imipenem hydrolyzing beta lactamase) ve SME (*Serratia marcescens* enzyme) gruplarıdır. Her üç majör enzim grubu da karbapenemler dışında penisilinler, sefalosporinler ve monobaktamlara da etki göstermektedir. Bir diğer enzim olan GES (Guiana Extended Spectrum) GSBL ailesi içinde yer almakla birlikte düşük düzeyde imipenem hidrolizi yapabilmesinden dolayı A sınıfı karbapenemazlar arasına dahil edilmiştir (30).

A sınıfı karbapenemazlar kromozomal ya da plazmid aracılığıyla kodlanabilmektedir. Kromozomal kodlanan enzimlere bakıldığında SME ve NMC/IMI enzimleri bu grupta yer almaktadır. Bu gruptaki enzimlerin özellikleri arasında karbapenemaz özellikleri dışında sefalosporinlere olan duyarlılıkları dikkat çekmektedir. SME-1 enzimi ilk defa 1980’li yılların başında İngiltere’de *S.marcescens* suşundan izole edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalar neticesinde SME-2 ve SME-3 enzimleri keşfedilmiştir. NMC/IMI enzimlerine bakıldığında iki enzim arasında büyük oranda moleküler benzerlik bulunmaktadır. İki enzimin de kromozomal kodlandığı bilinse de bazı *Enterobacter spp.* suşlarında plazmid aracılığıyla kodlanabildiği gösterilmiştir (31-33).

Plazmidle kodlanan enzimler arasında KPC ve GES yer almaktadır. KPC enziminin özelliklerine bakıldığında diğer 2f grubundaki karbapenemazlardan

sefotaksim gibi aminotiyazol türündeki sefalosporinleri hidrolize edebilmesiyle ayrılmaktadır. İsminden *K.pneumoniae* suşlarına aitmiş gibi anlaşılsa da diğer *Enterobacterales* üyelerinde de saptanabilmektedir. İlk defa 1996'da ABD'de saptanan KPC enzimi zamanla diğer ülkelerde de saptanmıştır. Bazı farklılıkları bulunan bu enzimler alt sınıflara ayrılarak KPC-1, KPC-2, KPC-3 gibi isimler almıştır. KPC-2 enziminin bir *Pseudomonas aeruginosa* suşunda saptanmasıyla KPC enziminin türler arası geçiş yapabildiği ortaya çıkmıştır. Plazmid aracılığıyla yayılmasından dolayı çok hızlı yayılım gösterebilmekle birlikte hastane enfeksiyonlarında çok ilaca dirençli türler oluşturmasıyla epidemiyolojik açıdan ciddi sorunlara yol açmıştır. KPC pozitif karbapenemaz üreten suşlar yüksek mortalite oranlarına sahip enfeksiyonlara neden olmaktadır. KPC üreten suşlara Güney ve Kuzey Amerika'da endemik olarak rastlanmaktadır. Avrupa'da İtalya ve Yunanistan'da endemik türler saptanmakla birlikte İspanya ve Fransa gibi ülkelerde sporadik vakalar ortaya çıkmıştır (34-36).

2.5.2. Sınıf B Karbapenemazlar (Metallo-Beta-Laktamazlar)

Bu türdeki karbapenemazlar bilinen beta laktamaz inhibitörleriyle inhibe olmamakla birlikte metal iyon şelatörleriyle inhibe olmaktadır. Aktif bölgelerinde çinko (Zn^{+2}) bulunmasından dolayı metal iyon şelatörü olan EDTA ile inhibe olmaktadır. Karbapenemler dışında penisilinler ve sefalosporinler inhibe edilebilmesine rağmen aztreonam gibi monobaktamlar üzerinde etkileri yoktur (24, 30).

Sınıf B metallo-beta-laktamazlar ilk olarak *Bacillus*, *Aeromonas* ve *Stenotrophomonas* gibi türlerde saptanmıştır. İlk olarak bu türlerde sınırlı kalacağının düşünülmesiyle klinik olarak büyük sorun oluşturmayacağı düşünülmüştür. Sonraki zamanlarda transfer edilebilen metallo-beta-laktamazların keşfedilmesiyle küresel ölçekte yayıldığı tespit edilmiştir. IMP (Active against imipenem, imipenemase), VIM (Verona Integron-Encoded Metallo-Beta-Lactamase) ve NDM (New Delhi metallo-beta-lactamase) türleri *Enterobacterales* türlerinde en sık görülen metallo-beta-laktamazları oluşturmaktadır (24, 30).

IMP enzimi 1991 yılında Japonya'da *P.aeruginosa* suşunun plazmidlerinde, sonrasında da 1995 yılında *S.marcescens* suşunda saptanmıştır. *S.marcescens* suşunda saptanmasıyla plazmid aracılığıyla türler arası geçiş yapabildiği bulunmuştur. Hidrolize edebildiği beta laktamlar arasında imipenem, penisilinler, sefalosporinler yer alır. Monobaktamlara karşı etkili değildir. Daha sonra Avrupa'da İtalya'da saptanan IMP

enzimi *A.baumannii* suşundan elde edilmiştir. Bu enzim IMP-2 olarak adlandırılmıştır. Günümüzde yaygın şekilde görülen IMP enziminin birçok varyantı bulunmaktadır. Özellikle Japonya, Çin, Tayvan ve Yunanistan'da endemik olan IMP varyantları bulunmuştur. IMP geninin birçok ilaca karşı dirençte rol alan Sınıf 1 integronlarıyla ilişkili olmasının keşfedilmesiyle IMP üreten türlerin çok ilaca karşı dirençli olduğu anlaşılmıştır. Sınıf 1 integronlarla ilişkili ilaç dirençleri arasında aminoglikozidler, kloramfenikol ve OXA-48 ailesi yer almaktadır. Sınıf 1 integronlar plazmid ya da transpozonlar aracılığıyla türler arasında rahatlıkla yayılabilmektedir (37-39).

VIM enzimi de IMP'ye benzer şekilde metallo-beta-laktamazlar içerisinde yaygın olarak görülmektedir. Her ikisi de penisilinlere ve sefalosporinlere karşı etki gösterirken monobaktamlara karşı etkisizdir. İlk olarak İtalya Verona'da bir *P.aeruginosa* suşundan izole edilmiştir. Daha sonra *K.pneumoniae* suşlarında IMP'de olduğu gibi integronlarla ilişkili olduğu keşfedilmiştir. Avrupa ülkelerinde (Yunanistan, İtalya, İspanya) ve Güneydoğu Asya'da (Hindistan, Japonya) daha fazla görülmekle birlikte tüm dünyada görülebilmektedir (40, 41).

NDM enzimi ilk olarak 2008 yılında İsveç'te hospitalize olan bir hastanın idrar örneğinden izole edilmiştir. Daha sonra hastanın daha önce New Delhi Hindistan'da bulunduğu belirlenmesiyle ve diğer saptanan hastaların Hindistan'ın bulunduğu coğrafya ile bağlantısının olmasından dolayı bu bölgeyle ilişkilendirilmiştir. NDM'nin herhangi bir spesifik plazmid türüyle taşınmadığı birçok plazmid türüyle taşınabildiğinin anlaşılması sonucunda NDM enziminin birçok ilaca direnç gösteren suşlarda görüldüğü belirlenmiştir. NDM enzimini taşıyan suşlar birbirinden bağımsız birçok direnç genini eksprese edebilmektedir. Bu enzimler arasında diğer karbapenemazlardan VIM ve OXA-48, GSBL'ler, AmpC türü sefalosporinazlar, aminoglikozid, makrolid, kinolon ve sülfametaksazol ilaçlarını hidrolize edebilen enzimler bulunmaktadır. Yine aynı zamanda NDM eksprese edilen türlerde eflüks pompaları direnç genleri de eksprese edilmektedir. Hem direnç genlerinin hem de ilaç direncini artıran direnç mekanizmalarının birlikte bulunmasıyla NDM eksprese eden suşlar büyük bir sorun haline gelmiştir. Çoğunlukla hastane enfeksiyonlarından izole edilen *K.pneumoniae* ve *E.coli* türlerinde saptanan NDM genlerinin toplum kökenli enfeksiyon etkenlerinde de saptanması endişe verici hale gelmiştir. Hindistan'da yaygın görülen NDM enziminin ülkemizde de görülmesi klinisyenler açısından büyük sorun teşkil etmektedir (24, 42, 43).

Enterobacterales türlerinde görülmeyen ancak diğer türlerde görülen metallo-beta-laktamaz tipleri de bulunmaktadır. Bunlar arasında GIM (German Imipenemase), SIM (Seoul Imipenemase), SPM (Sao Paulo metallo-beta-lactamase) gibi enzimler yer almaktadır (24).

2.5.3. Sınıf D Karbapenemazlar

Bu gruptaki karbapenemazlar, karbapenemleri hidrolize etme yetenekleri düşük olmasına karşın oksasilin ve kloksasilin gibi penisilinleri hidrolize etmektedir. Bu nedenle oksasilinazlar olarak da adlandırılırlar. Beta laktamazların fonksiyonel sınıflandırılmasında 2df grubunda yer alırlar. İlk olarak 1993'te bir *A.baumannii* suşunda saptanan enzim ARI (*Acinetobacter* resistant imipenem) olarak adlandırılmıştır. Ancak daha sonra enzimin yapılan genetik analizleri sonucunda OXA-23 olarak isimlendirilmesine karar verilmiştir. Bu gruptaki enzimler seftazidim, seftriakson ve aztreonamı hidrolize edemezler. İmipenem ve meropenem gibi karbapenemleri hidrolize edebilme yetenekleri zayıftır. EDTA ve klavulonik asitle inhibe olmazken, etkinlikleri NaCl ile azalmaktadır. Genellikle bu gruptaki karbapenemazlara porin kaybı gibi direnç mekanizmalarının da eşlik ettiği bildirilmiştir (44-46).

Sınıf D karbapenemazlar genellikle *Acinetobacter* suşlarından izole edilmekteyken OXA-48 genellikle *Enterobacterales* türlerinde görülmektedir. OXA-48 dünya çapında ilk olarak 2001 yılında ülkemizde İstanbul'da bir *K.pneumoniae* suşundan elde edilmiştir. Bildirilmesinden sonra Türkiye, Hindistan, Kuzey Afrika'dan bildirimler yapılmakla beraber, OXA-48 için bu bölgelerin rezervuar olduğu anlaşılmıştır. Genellikle OXA enzimleri kromozomal olarak kodlanmaktayken OXA-23 ve OXA-48 enzimlerinin plazmid aracılığıyla taşınabildiği gösterilmiştir. OXA-48'in nokta mutasyonlar geçirmesiyle OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-232 gibi çeşitli varyantlar meydana gelmiştir. Bu tiplerin aminoasit dizilimlerinin büyük bölümünün OXA-48 ile aynı olduğu belirlenmiştir. OXA-163'ün OXA-48'den farklı olarak genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere karşı da etkili olduğu belirlenmiştir. Yine aynı şekilde OXA-181'in VIM ve NDM gibi metallo-beta-laktamazlarla sıklıkla birlikte bulunması OXA-48'den farkları arasında yer almaktadır. Ülkemizde de yaygın şekilde görülen OXA-48 ve varyantlarının plazmid aracılığı ile türler arasında geçiş yapabilmesi karbapenem direnci açısından büyük problem oluşturmaktadır (44-46).

2.6. Karbapenem Direncinin ve Karbapenemazların Saptanması

Karbapenemaz üreten *Enterobacterales* türlerinin karbapenem direncinin ve türünün saptanması klinik açıdan büyük önem taşımaktadır. Karbapenemaz türünün saptanması, klinisyenlerin kullanabileceği antibiyotikler açısından yol gösterici olabilecektir. Rutin laboratuvarlarda karbapenemaz türünün rutin olarak saptanması zor ve maliyetlidir. Sadece antimikrobiyal duyarlılık testlerine bakılarak yapılan yorumlar doğru olmayabilmektedir. Bu nedenle maliyet etkin yöntemlerin seçilip, uygun hastalarda karbapenemaz aktivitesinin doğru şekilde tanımlanması gereklidir. Karbapenemaz aktivitesinin saptanması ilk olarak karbapenemlere olan direncin görülmesi ile başlamalıdır. Daha sonrasında uygun olan fenotipik ve genotipik yöntem seçilerek karbapenemaz tipi belirlenmelidir (5, 47).

Karbapenem direncinin standartları için European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) sınır değer tabloları oluşturmuştur. Karbapenemler için yer alan tablo aşağıdaki gibidir:

Tablo 4. EUCAST Karbapenemler Sınır Değer Tablosu (48)

Karbapenemler	MİK değerleri (mg/L)		Disk içeriği (µg)	Zon Çapı (mm)	
	S ≤	R		S ≥	R
Doripenem	1	2	10	24	21
Ertapenem	0,5	0,5	10	25	25
İmipenem	2	4	10	22	19
Meropenem	2	8	10	22	16

2.6.1. Karbapenemazların Fenotipik Yöntemlerle Saptanması

Modifiye Hodge Testi: Modifiye Hodge testi laboratuvarlarda rutin olarak kullanılan, karbapenemazların fenotipik yöntemlerle saptanmasında kullanılan yöntemlerden biridir. Prensip olarak karbapenemaz üreten türün karbapenem grubu antibiyotiği uygun besiyerinde inaktive etmesi esasına dayanmaktadır. Test yapılırken *E.coli* ATCC 25922 suşu ya da bilinen başka indikatör suş 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanarak

Mueller Hinton agar üzerine ekimi yapılmaktadır. Sonrasında kullanılacak olan 10µg'lık meropenem ya da imipenem diski besiyerinin ortasına konulmaktadır. Ardından test edilecek bakterinin diskin merkezinden dışına doğru çizgisel şekilde ekimi yapılmaktadır. Uygun ortamda 24 saat bekletildikten sonra disk inhibisyon zonunda olan şekil değişikliği (yonca yaprağı görüntüsü) testin pozitif olduğu anlamına gelmektedir. Metallo-beta-laktamazlar açısından, kullanılan Mueller-Hinton agara çinko ilave edilmesinin kullanılan testin duyarlılık seviyesini arttırdığı bilinmektedir (49).

Sinerji Testleri (İnhibitör Tabanlı Testler): Sinerji testlerinde in vitro ortamda karbapenemaz türüne özgü inhibitör ortama konularak karbapenemaz aktivitesinin inhibe olması kullanılmaktadır. İnhibitör eklenmesiyle inhibisyon zon çapında artma ya da MİK değerlerinde azalma görülmesi sinerji oluşumu şeklinde tanımlanmaktadır. Ambler sınıflandırmasına göre A sınıfı karbapenemazlar için boronik asit, B sınıfı metallo-beta-laktamazlar için EDTA ya da dipikolinik asit, C sınıfı AmpC beta laktamazlar için boronik asit ya da kloksasilin, D sınıfı OXA enzimleri için sodyum klorür inhibitör olarak kullanılmaktadır. OXA tipi enzimler için NaCl kullanılması rutin olarak kullanılmamaktadır (50). Karbapenemazlar ve inhibitörleri arasında sinerji aşağıdaki yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir:

Kombine disk yönteminde test edilecek suşun Mueller Hinton agar üzerine ekimi yapılmaktadır. Ardından kullanılacak karbapenem diski ve kombine disk ayrı ayrı agar üzerine koyulmaktadır. Kombine diskin içerisinde seçilen karbapenem diski ve seçilen inhibitör bulunmaktadır. Seçilen karbapeneme göre kombine diskteki zon artışı kullanılan inhibitör için testin pozitif olduğunu gösterir(50).

Çift disk sinerji testinde kullanılacak inhibitör emdirilmiş diskler, kullanılan karbapenem disklerinden belirli uzaklıklara konularak agar üzerine yerleştirilmektedir. Kullanılan karbapenemin oluşturduğu zon çapında inhibitöre doğru artış görülmesi sinerji testinin pozitif olduğu anlamına gelmektedir (50).

MİK saptanması esasına göre yapılan testlerde ortama inhibitör eklenerek MİK değerlerinde azalma görülmesi ya da zon inhibisyon çapında artışın belirlenmesi testin pozitif olduğu, organizmanın inhibitörüne uygun karbapenemazı ürettiği anlamına gelmektedir. Metallo-beta-laktamazlar için kullanılan strip testlerinde, imipenem ve imipenem-EDTA içeren gradiyent testler mevcuttur. Test sonucunda MİK değerinde üç kat ya da daha fazla azalma görülmesi testin pozitif olduğu anlamına gelmektedir (50).

Karbapenem İnaktivasyon Metodu (Carbapenem Inactivation Method, CIM):

Karbapenemaz testi yapılacak suşla, karbapenem diskinin aynı ortama bırakılarak karbapenem diskinin etkisini kaybetmesi esasına dayanan fenotipik yöntemlerden biridir. Rutin laboratuvarlarda kullanılabilecek, ucuz, uygun ve düşük maliyetli bir testtir. Suda hazırlanan bakteri solüsyonuna kullanılacak karbapenem diski atılıp iki saat boyunca 37°C’de bekletilmektedir. Daha sonra alınan disk seçilen bir indikatör mikroorganizmanın (*E.coli* ATCC 25922 vs.) Mueller Hinton agara ekilmesiyle kullanılmaktadır. Normal şartlarda 6 saat sonrasında kullanılan diskin etrafında inhibisyon zonu oluşması gerekirken, test edilen suş karbapenemaz üretiyorsa disk inhibe olarak inhibisyon zonu oluşmayacaktır. Kullanımı kolay ve ucuz olduğundan dolayı diğer testlerle yapılan kıyaslamalar mevcuttur (4).

Carba NP Testi: Karbapenemazların fenotipik saptanma yöntemlerinden biri olan bu testin mantığı beta laktam halkasının hidrolizine dayanmaktadır. Laboratuvarlarda kolay şekilde uygulanabilmesi, kolay olması, kısa sürede sonuç vermesi gibi avantajları bulunmaktadır. Test yapılırken lizis tamponu içerisindeki bakteri solüsyonun santrifüj edilmesinden sonra elde edilen süpernatant hazırlanmış kuyucuklara ilave edilmektedir. Kuyucukların içerisinde imipenem, pH indikatörü olarak fenol kırmızısı ve çinko sülfat bulunmaktadır. İki saatlik inkübasyon sonrasında kırmızı rengin sarıya dönerek renk değişiminin olması, imipenemin parçalanması ve testin pozitif olması anlamına gelmektedir. Kuyucuklarda renk değişimi olmadan kırmızı kalması ise testin negatif olduğunu göstermektedir. Kısa sürede sonuç alınabilmesi ve duyarlılık özgüllük oranlarının yüksek olması bu testin laboratuvarlarda daha fazla tercih edilmesine yol açmıştır (51).

Spektrofotometre Yöntemleri: Karbapenemazların tespitinde kullanılan fenotipik yöntemlerden birisi UV spektrofotometre yöntemidir. Bu yöntem uygulanırken test edilmek istenen bakteri türünden bir koloni alınarak sıvı besiyerine ekilir. Etüvde 37°C’de 18 saat bekletilip sonrasında santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında çinko sülfat tamponu ile karıştırılarak sonikasyon yöntemi ile beta laktamaz ekstraktı elde edilir. Son aşamada bu ekstrakt imipenem solüsyonu ile karıştırılarak imipenem hidrolizi hesaplanır. Hesaplama yapılırken 297 nm’lik dalga boyundaki UV spektrofotometre kullanılır. Bu teknik, karbapenemaz tespiti için ucuz ve hassas bir yöntem olmasına rağmen, uygulanmasının uzun zaman alması ve ekipman gerektirmesi, testin pek tercih edilmemesine neden olmuştur (52).

Karbapenemazların tespitinde kullanılan diğ er bir yöntem MALDI-TOF MS yöntemidir. MALDI-TOF MS genellikle bakteri identifikasyonu amacıyla kullanılırken karbapenemazların tespiti için de kullanılabilmektedir. Karbapenemaz tespiti, karbapenem bozunma ürünlerine karşılık gelen pik spektrumları analiz edilerek yapılmaktadır. Testin duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olduğu belirlenmiştir (52).

 mm nkromatografik Yöntemler: Bu yöntem kromatografik k ğıt üzerinde karbapenemazların tespit edilmesi esasına dayanmaktadır. Karbapenemaz molekülüne bağlanan iki spesifik antikor kompleks oluşturarak k ğıt üzerinde g   etmektedir. K ğıt üzerinde g   sonucu renk değişiminin olması testin pozitif olduğu anlamına gelmektedir (53).

Bu yöntemlerin dışında karbapenemazların tespitine yönelik özel besiyerleri ve kültür ortamları da bulunmaktadır. Karbapenemaz üreten türlerin yoğun bakımlarda ciddi sorun oluşturabilmesi bu konuda taramalar yapılmasını gerekli kılmıştır. Rektal  r neklerden tarama yapılabilmesi için triptik soy buyyonlu yöntemler, kromojenik besiyerleri gibi birçok ticari kit geliştirilmiştir. Bunun yanında, bu tezin konusu olan otomatik sistemlerde kullanılabilen ve karbapenemazı tanımlayarak karbapenemaz tipini de tespit edebilen BD CPO paneli gibi ticari kitler bulunmaktadır (54, 55).

2.6.2. Karbapenemazların Moleküler Yöntemler Kullanılarak Saptanması

Fenotipik yöntemler rutin laboratuvarlarda tanı ve tarama amacıyla kullanılabilen ucuz, hızlı, maliyet etkin yöntemlerdir. Ancak fenotipik yöntemlerin tam olarak spesifik karbapenemaz tipini saptayamaması gibi dezavantajları da mevcuttur. Bu nedenle moleküler yöntemler kullanılarak aranan karbapenemaz tipinin tespiti yapılabilmektedir. Karbapenemaz tespitinin yapılmasında altın standart yöntem moleküler yöntemlerdir. En sık kullanılan yöntemse PCR yöntemidir. Donanım ve bilgili personel gerektirmesi, sadece aranmak istenen gen bölgesinin taranması nedeniyle yeni gen tiplerinin atlanabilmesi PCR tabanlı testlerin dezavantajlarından bazılarıdır. Klasik PCR yapılabileceği gibi ticari olarak kullanılabilen real time PCR, multipleks PCR, nested PCR gibi yöntemler de karbapenemaz tespitinde kullanılabilmektedir (53-55).

2.7. Karbapenemaz Üreten *Enterobacterales* Türlerinde Yeni Antibiyotiklerin Kullanımı

Karbapenemaz üreten *Enterobacterales* türleri klinisyenler için büyük problem oluşturmaktadır. Dirençli suşların gün geçtikçe yayılması ve farklı türler arasındaki direnç gen transferleri tedavi seçeneklerini zorlaştırmaktadır. Güncel tedavi seçenekleri genellikle polimiksin E (kolistin), fosfomisin, tigesiklin ve bunların karbapenemlerle kombinasyonu şeklinde olmaktadır. Yeni geliştirilen ve zamanla tedavide kullanılabilecek antibiyotikler arasında seftazidim avibaktam, seftolozan tazobaktam, aztreonamı avibaktam, seftarolin avibaktam, sefidrokol, meropenem vaborbaktam, imipenem relebaktam, eravasiklin gibi farklı türden antibiyotikler bulunmaktadır. Antimikrobiyal direnç oranları her geçen gün artsa da yeni ilaçların keşfedilip tedavide kullanılabilmesi umut vericidir (56).

2.7.1. Seftazidim Avibaktam

Seftazidim avibaktam, üçüncü kuşak sefalosporin olan seftazidim ile beta laktamaz inhibitörü olan avibaktamın dörtte bir oranında kombinasyonu ile elde edilen yeni bir tedavi seçeneğidir. Amerika Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanan bu ilacın endikasyonları arasında pyelonefrit dahil komplike üriner sistem enfeksiyonları, komplike intraabdominal enfeksiyonlar ve ventilatör ilişkili pnömoni dahil hastanede kazanılmış pnömoni yer almaktadır. Avrupa İlaç Kurumu (EMA) bu üç endikasyon dışında tedavi seçenekleri kısıtlı olan aerob Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında da kullanılabileceğini bildirmiştir (56, 57).

Seftazidim avibaktamın Ambler sınıf A, sınıf C ve sınıf D beta laktamazlara karşı etkisi bulunmaktadır. Buna karşı Ambler sınıf B'de bulunan metallo-beta-laktamazlara karşı etki göstermemektedir. Antipseudomonal etkinliği de bulunan seftazidim avibaktamın anaerob etkinliği ise bulunmamaktadır (56, 57).

2.7.2. Meropenem Vaborbaktam

Meropenem vaborbaktam, boronik asit türevi bir beta laktamaz inhibitörü vaborbaktam ile meropenemin kombinasyonudur. Vaborbaktamın serin proteazlara olan hidroliz aktivitesinin yüksek olmasından dolayı özellikle KPC ve diğer sınıf A karbapenemazlara, sınıf C beta laktamazlara etki göstermektedir. B sınıfında bulunan

metallo-beta-laktamazlara ve D sınıfında OXA tipi karbapenemazlara ise etkisi bulunmamaktadır. *Enterobacterales* türleri için vaborbaktam ile birlikte kullanıldığında meropenemin etkisi ciddi oranda artmaktadır (56, 58).

2.7.3. İmipenem Relebaktam

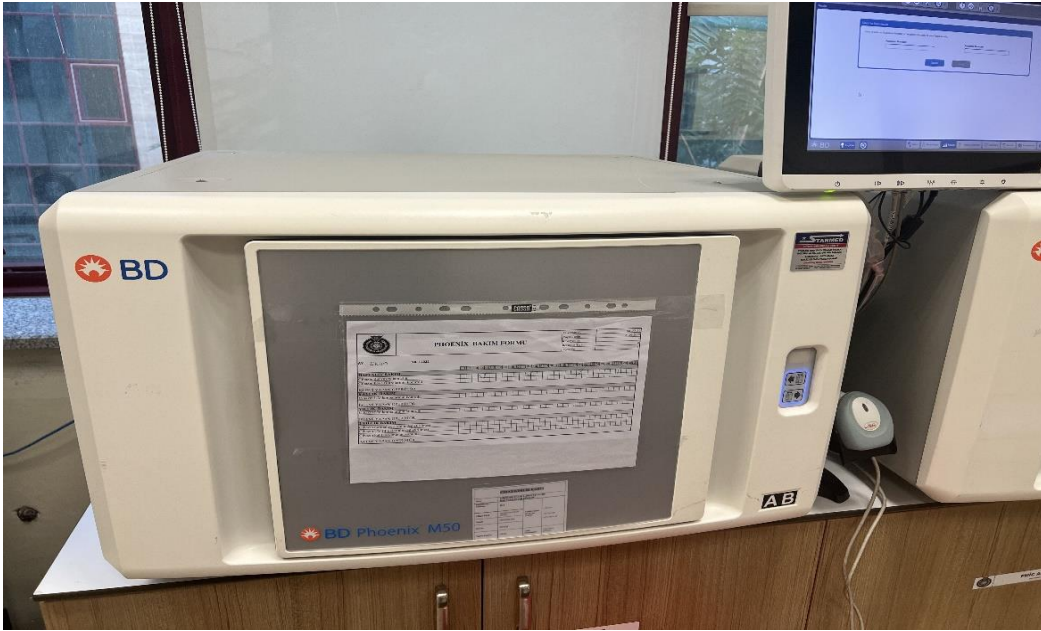
İmipenem relebaktam, yapısında bir beta laktam antibiyotik olan imipenem ile beta laktamazların yeni üyelerinden olan relebaktamın kombinasyonundan oluşmaktadır. Relebaktam, bisiklik bir üre molekülü olup avibaktam gibi piperidin halkası içeren serin bazlı moleküldür. Meropenem vaborbaktama benzer şekilde KPC dahil sınıf A ve sınıf C beta laktamazlara karşı etki göstermektedir. Ancak B sınıfındaki metallo-beta-laktamazlara ve D sınıfındaki karbapenemazlara etkinliği bulunmamaktadır. Antipseudomonal etkinliği bulunan imipenem relebaktamın, *A.baumannii*'ye karşı etkinliği bulunmamaktadır (56, 59).

2.7.4. Sefiderokol

Sefiderokol, sideroforlar aracılığı ile hücre içine girişi bulunan yeni bir sefalosporin türüdür. Sideroforlar, bakteri ve mantarlardan üretilen demir bağlayıcı bileşiklerdir. Mikroorganizmaların belirli sideroforları tanınması bu türde bulunan bileşiklerin sınırlı sayıda selektif antimikrobiyal etkisine yol açmıştır. Sefiderokolün yapısında siderofor gibi işlev gören katekol bir parça bulunmaktadır ve bu taşıma sistemine duyarlı olan mikroorganizmalara etki göstermektedir. GSBL ve karbapenemaz üreten *Enterobacterales* suşlarına etkisi mevcuttur. Ayrıca NDM enzimleri de dahil olmak üzere Ambler sınıf A, B ve D tipinde karbapenemaz üreten suşlara etkili olduğu gösterilmiştir (56, 60).

3. GEREÇ YÖNTEM

Çalışmamıza Ocak 2022 - Ocak 2023 yılları arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kültür örneklerinden izole edilen 71 adet *Enterobacterales* türü dahil edilmiştir. Gelen kültür örnekleri numune kabulü yapıldıktan sonra bakteriyoloji biriminde işleme alınmıştır. Kan kültürü örneklerinin kabulü yapıldıktan sonra kan kültür şişeleri BD BACTEC™ FX otomatize sistemi ile 5 gün inkübe edilmiştir. Bu süre içerisinde pozitif sinyal alınan kan kültürü ve gelen diğer kültürlerin %5 KKA, EMB agar ve çukolata agar besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Ekimleri yapılan petriler etüvde 37°C’de 24-48 saat süresince inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda üreyen mikroorganizmalar, mikroskopta koloni morfolojileri Gram boyama ile incelenerek identifikasyon için BD Phoenix™ M50 otomatize sistemi (Becton Dickinson, ABD) kullanılmıştır. Sonuçlar EUCAST kriterlerine göre değerlendirilmiştir (48). BD Phoenix otomatize sistem NMIC paneline göre “potential carbapenemase producer” olarak tanımlanan karbapenemaz üreticisi olan 71 *Enterobacterales* izolatu çalışmaya alınmıştır. Bu izolatlar BD CPO panel (NMIC 505) ve BD MAX™ CPO ile analiz edilerek karbapenemaz üretimi belirlenmiştir. Moleküler yöntem için çalışılacak izolatlar çalışılacak güne kadar - 80°C’de, eppendorf tüplerinde yağsız süt içerisinde stoklanarak saklanmıştır.



Şekil 1. BD Phoenix™ M50 otomatize sistem cihazı

Çalışmamız Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 25.01.2022 tarihinde 11 karar numarası ile onaylanmıştır. Proje giderleri Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi projesi ile karşılanmıştır (Proje no: 2022 / 3 - 19 D).

3.1. Örneklem Büyüklüğünün Belirlenmesi

Örnek sayısının belirlenmesinde power analizinden yararlanılmıştır. Alfa 0,05 birinci tip hata düzeyinde, beta 0,20 ikinci tip hata düzeyinde, 0,80 testin gücünde çalışmaya alınması gereken örnek sayısı minimum 64 olarak belirlenmiştir. Çalışmamız zamanlama olarak prospektif bir araştırma olup metodolojik türde valideite araştırmasıdır.

3.2. BD CPO Panel (NMIC-505) ile Numunelerin Çalışılması

Geçtiğimiz yıllarda Becton Dickinson (BD), antimikrobiyal duyarlılık testi (ADT) panellerine ek olarak otomatize karbapenemaz testini (BD Phoenix CPO panel) tanıtmıştır. CPO testi (NMIC-505) ADT paneline ek olarak karbapenemaz aktivitesini tespit ederek karbapenemaz üreten türleri Ambler sınıflandırmasına göre tanımlamaktadır (61). Ayrıca diğer ADT panellerine ek olarak seftazidim avibaktam, seftolozan tazobaktam, ofloksasin ve tobramisin gibi yeni antibiyotik seçenekleri CPO panel içerisinde bulunmaktadır.

Çalışmaya alınan izolatlar daha önce ekimi yapılan KKA üzerinden 4-5 koloni eküvyon çubuğu yardımıyla alınarak ID Broth tüpü içerisine alınmıştır. ID tüpü içerisindeki bakteri süspansiyonu vortekslenerek daha homojen hale getirilip 0,5 McFarland oranında bulanıklık elde edilmeye çalışılmıştır. Daha önceden oda ısısına getirilen AST Broth tüpü içerisine AST indikatör solüsyonundan bir damla damlatılmıştır. Bakteri süspansiyonu içerisinden 25 µl alınarak CPO panel üretici tavsiyesi doğrultusunda AST tüpünün içerisine konulmuştur. AST tüpünün kapağı kapatıldıktan sonra karışmanın sağlanması için AST tüpü birkaç defa ters düz edilmiştir. Daha sonra ID tüpü CPO panelin ID tarafına, AST tüpü CPO panelin AST tarafına boşaltılarak kuyucukların dolması sağlanmıştır. Kuyucuklar dolduktan sonra tüplerin boşaltıldığı alanlar plastik bir kapak aracılığıyla kapatılarak panel cihaza yüklenmeye

hazır hale getirilmiştir. BD Phoenix otomasyon sistemine yüklenen panellerin yorumu 24 saat sonra cihaz tarafından otomatik olarak raporlanmıştır.



Şekil 2. BD Phoenix CPO panel (NMIC-505)

3.3. BD MAX™ CPO Testi ile Numunelerin Çalışılması

Real Time PCR, floresan işareti olan prob ve boyaların kullanıldığı nükleik asit amplifikasyonu ile aynı zamanda kantitatif ölçümün yapılabildiği PCR yöntemidir. Geleneksel PCR'dan farklı olarak real time PCR'da amplifikasyon yapılırken amplikonların ölçümü de yapılabilmektedir. Kontaminasyon riskinin düşük olmasından dolayı real time PCR daha fazla tercih edilmeye başlanmıştır. Bizim çalışmamızda real time PCR yöntemi olarak BD MAX™ CPO testi kullanılmıştır. Bu testte karbapenemaz üreten izolatlardaki OXA-48, KPC, NDM ve VIM/IMP olmak üzere dört karbapenemaz gen bölgesi belirlenebilmektedir. Dört gen bölgesini aynı anda tanımlayabilmesi, kısa çalışma süresi, aynı anda 24 hasta örneğini çalışabilmesi gibi avantajları bulunmaktadır.

BD MAX™ CPO panel ile çalışma yapılırken kit prosedürüne uygun olarak çalışılmıştır. Direnç geni araştırılacak bakteri izolatlarının öncelikle KKA ve EMB agara pasajları yapılmıştır. Pasajlar 24 saat 37°C'de etüvde inkübe edilmiştir. Daha sonra her bir izolat için ID Broth tüplerine 0,5 – 1 arasında olacak şekilde McFarland ayarlanmıştır. Üç farklı tüpe 9500'er µl distile su konulmuştur. Ardından bulanıklıkları daha önceden ayarlanmış olan ID tüplerinden 500 µl alınarak 3 tüpe sırayla seri

dilüsyon yapılmıştır. Kite bulunan çalışma tüpüne 500 µl distile su ve seri dilüsyonu yapılmış olan üçüncü tüpten 10 µl alınarak çalışma raklarına yerleştirilmiştir. Kite yer alan master mix ve ekstraksiyon tüpleri yerlerine yerleştirildikten sonra kitler BD MAX™ cihazına yerleştirilmiştir. Ortalama üç saatlik çalışma süresinden sonra çalışılan izolatların OXA-48, NDM, KPC ve VIM/IPM direnç genleri için çalışılan izolatların sonuçları sistemden otomatik olarak alınmıştır.



Şekil 3. BD MAX™ Cihazı

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile incelenmiştir. Nitel değişkenler arasındaki kategorik grupların dağılımları arasındaki farklılık Chi square testi ve exact testi ile incelendi. İki yöntem arasındaki uyum iyiliği Kappa katsayısı ile incelendi. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi. İstatistik parametreleri ortalama, standart oran (%) ve frekans (n) ile ifade edildi. IBM SPSS versiyon 22 (IBM SPSS for Windows version 22, IBM Corporation, Armonk, New York, United States) ve R.3.3.2 yazılımlarından yararlanılmıştır.



Şekil 4. BD MAX™ CPO kiti

4. BULGULAR

Çalışmamıza kültür örneklerinden izole edilen 71 *Enterobacterales* izolatu alınmıştır. Üreyen mikroorganizmaların dağılımlarına bakıldığında büyük bölümünün *K.pneumoniae* ve *E.coli* olduğu görülmüştür. Otomatize sistemde tanımlanan mikroorganizmaların dağılımı Tablo 5’de belirtilmiştir.

Tablo 5. Üreyen mikroorganizmaların dağılımı [n (%)]*

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	55 (% 77,5)
<i>Escherichia coli</i>	12 (% 16,9)
<i>Serratia marcescens</i>	2 (% 2,4)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (% 1,4)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 (% 1,4)
Toplam	71 (% 100)

* n: üreyen mikroorganizma sayısı %: üreyen mikroorganizma yüzdesi

Tespit edilen mikroorganizmaların kliniklere göre dağılımı incelendiğinde, örneklerin çoğunun yoğun bakım hastalarından, özellikle anesteziyoloji yoğun bakım ve göğüs hastalıkları yoğun bakım ünitelerinde izole edildiği belirlenmiştir. İzole edilen mikroorganizmaların kliniklere göre dağılımı Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. İzolatların kliniklere göre dağılımı [n (%)]*

Yoğun bakım hastası	52 (% 73,2)
Servis hastası	15 (% 21,2)
Poliklinik hastası	4 (% 5,6)
Toplam	71 (% 100)

* n: hasta sayısı %: hasta yüzdesi

Hastaların demografik özelliklerine bakıldığında yaşları 0-107 arasında değişen 71 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastaların yaş ortalaması 58, yaşlarına göre medyan değeri 67 olarak bulunmuştur. Çalışmaya alınan 71 hastanın 40’ının (% 56,3) erkek, 31’inin (% 43,7) kadın olduğu belirlenmiştir. Çalışmada mikroorganizmaların izole edildiği örneklerin sıklık sırasına göre kan kültürü (% 31), trakeal aspirat kültürü (%)

28,2) ve yara kültürü (% 24) olduğu görülmektedir. İzole edilen mikroorganizmaların örneklere göre dağılımı Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. İzole edilen mikroorganizmaların örneklere göre dağılımı [n (%)]*

Kan kültürü	22 (% 31)
Trakeal aspirat kültürü	20 (% 28,2)
Yara kültürü	17 (% 24)
Bronkoalveoler lavaj kültürü	7 (% 9,8)
Kateter kültürü	3 (% 4,2)
Dren sıvısı kültürü	1 (% 1,4)
Apse kültürü	1 (% 1,4)
Toplam	71 (%100)

* n: kültür sayısı %: kültür yüzdesi

Hastaların kültürlerinde üreyen mikroorganizmaların ADT sonuçlarına bakıldığında 71 izolatın 67’sinin ESBL (Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz) pozitif olduğu belirlenmiştir. ADT sonuçlarına göre en etkili antibiyotiğin seftazidim avibaktam olduğu görülmektedir. Seftazidim avibaktamın 71 izolatın 63’ünde (% 88,7) duyarlı olduğu belirlenmiştir. Duyarlılık oranları yüksek olan diğer antibiyotiklerin kolistin, gentamisin, tigesiklin, meropenem ve imipenem olduğu belirlenmiştir. Kolistin 71 izolatın 45’inde (% 63,3) duyarlı olduğu görülmüştür. Kolistin sonuçları sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre belirlenmiştir. Karbapenemler içerisinde en etkili antibiyotiğin meropenem olduğu görülmüştür. Meropenemin 18 izolatta (% 25,3) duyarlı, dört izolatta (% 5,6) arttırılmış dozda duyarlı (orta duyarlı), 49 izolatta (% 69) dirençli olduğu belirlenmiştir. Karbapenemlerden imipenemin duyarlılık oranlarına bakıldığında 14 izolatın (% 19,7) duyarlı olduğu, 18 izolatın (% 25,3) arttırılmış dozda duyarlı olduğu (orta duyarlı) belirlenmiştir. Bunun yanında sadece üç izolat (% 4,2) ertapeneme duyarlı bulunmuştur. Bakteri türlerine göre karbapenem grubu antibiyotiklerin direnç ve duyarlılık dağılımı farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Seftazidim avibaktamın direnç ve duyarlılık dağılımlarında istatistiksel olarak anlam bulunamamıştır (Tablo 10).

Çalışmaya alınan mikroorganizmaların CPO panel (NMIC-505) sonuçlarına bakıldığında 71 izolatın 48’inin (% 67,8) Ambler sınıflandırmasına göre class D,

altısının (% 8,4) Ambler class B, dokuzunun (% 12.6) sınıflandırma yapılmadan karbapenemaz üreticisi olarak “carbapenemase producer” şeklinde raporlandığı belirlenmiştir. İzolatlardan sekizinin (% 11,2) karbapenemaz üretmediği belirlenmiştir. Çalışmaya alınan izolatların hiçbirinde Ambler A sınıfı karbapenem direnci saptanmamıştır.

Moleküler yöntem olan BD MAXTM CPO testi dört direnç geni (KPC, NDM, VIM/IPM, OXA-48) araştırılmıştır. Çalışmaya alınan mikroorganizmaların hiçbirinde KPC ve VIM/IPM direnç geni saptanmamıştır. İzolatların 60'ında (%84,5) OXA-48 direnç geni, 7'sinde (%9,8) hem OXA-48 hem de NDM direnç geni tespit edilirken, dördünde (%5,6) direnç geni saptanmamıştır.

İki yöntem karşılaştırıldığında CPO panel ile class D olarak belirlenen 48 izolatın; moleküler yöntem ile 43'ünün OXA-48, ikisinin hem OXA-48 hem NDM ürettiği belirlenmiştir. Üç izolatta hiçbir direnç geni saptanmamıştır. CPO panel ile class B olarak belirlenen altı izolatın; dördünün hem OXA-48 hem NDM ürettiği, birinin sadece OXA-48 pozitif olduğu belirlenmiştir. Bir izolat negatif olarak raporlanmıştır. CPO panelde “carbapenemase producer” olarak belirlenen dokuz izolatın; sekizinin OXA-48 ürettiği, birinin hem OXA-48 hem NDM ürettiği belirlenmiştir. CPO panel sonuçlarına göre karbapenemaz üretmediği tespit edilen sekiz izolatın tamamında OXA-48 direnç geni pozitif bulunmuştur. OXA-48 için CPO panelin duyarlılığı % 67, özgüllüğü %25 olarak bulunmuştur. Yapılan analizde kappa katsayısı değerine göre (-0.024) iki yöntem arasında istatistiksel açıdan herhangi bir uyum gözlenmemiştir (p=0,745). Tablo 11'de izolatların her iki testle karşılaştırıldığı çapraz tablo yer almaktadır.

Tablo 8. İzole edilen mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları - 1

	Klebsiella pneumoniae (n=55)			Escherichia coli (n=12)		
	S	I	R	S	I	R
Amikasin	3	4	48	8	3	1
Amoksisilin	-	-	55	-	-	12
Amoksisilin Klavulonat	-	-	55	-	-	12
Ampisilin	-	-	55	-	-	12
Ampisilin Sulbaktam	-	-	55	-	-	12
Sefepim	-	1	54	-	1	11
Sefotaksim	-	-	55	-	-	12
Seftazidim	-	4	51	1	-	11
Seftazidim Avibaktam	50	-	5	10	-	2
Seftalozon Tazobaktam	-	-	55	3	-	9
Seftriakson	-	-	55	-	-	12
Sefuroksim	-	-	55	-	-	12
Siprofloksasin	1	1	53	-	-	12
Kolistin	31	2	22	12	-	-
Ertapenem	-	-	55	2	-	10
Gentamisin	9	-	46	4	-	8
İmipenem	4	16	35	8	2	2
Levofloksasin	1	1	53	-	-	12
Meropenem	7	2	46	9	1	2
Ofloksasin	1	-	54	-	-	12
Piperasilin Tazobaktam	-	-	55	1	-	11
Tigesiklin	9	26	20	9	-	3
Tobramisin	3	-	52	1	-	11
Trimetoprim Sulfametoksazol	1	-	54	4	-	8
ESBL (+)	54			12		
Toplam	55			12		

Tablo 9. İzole edilen mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları - 2

	<i>Serratia marcescens</i> (n=2)			<i>Enterobacter cloacae</i> (n=1)			<i>Klebsiella oxytoca</i> (n=1)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amikasin	2	-	-	1	-	-	1	-	-
Amoksisilin	-	-	2	-	-	1	-	-	1
Amoksisilin Klavulonat	-	-	2	-	-	1	-	-	1
Ampisilin	-	-	2	-	-	1	-	-	1
Ampisilin Sulbaktam	-	-	2	-	-	1	-	-	1
Sefepim	2	-	-	-	1	-	-	-	1
Sefotaksim	1	-	1	-	-	1	-	-	1
Seftazidim	2	-	-	-	-	1	-	-	1
Seftazidim Avibaktam	2	-	-	1	-	-	-	-	1
Seftalozon Tazobaktam	1	-	1	-	-	1	-	-	1
Seftriakson	1	1	-	-	-	1	-	-	1
Sefuroksim	-	-	2	-	-	1	-	-	1
Siprofloksasin	1	-	1	1	-	-	-	-	1
Kolistin	1	-	1	-	-	1	1	-	-
Ertapenem	1	-	1	-	-	1	-	-	1
Gentamisin	2	-	-	1	-	-	-	-	1
İmipenem	1	-	1	1	-	-	-	-	1
Levofloksasin	1	-	1	1	-	-	1	-	-
Meropenem	1	1	-	1	-	-	-	-	1
Ofloksasin	1	-	1	1	-	-	1	-	-
Piperasilin Tazobaktam	1	-	1	-	-	1	-	-	1
Tigesiklin	-	1	1	-	-	1	1	-	-
Tobramisin	2	-	-	1	-	-	-	-	1
Trimetoprim Sulfametoksazol	2	-	-	1	-	-	1	-	-

ESBL (+)	-	-	1
----------	---	---	---

Toplam	2	1	1
--------	---	---	---

Tablo 10. Seftazidim avibaktam ve karbapenem grubu antibiyotiklerin bakteri türlerine göre duyarlılıklarının dağılımı

	S		I		R		P
	n	%	n	%	n	%	
Seftazidim Avibaktam							
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	50	90,9	0	0	5	9,1	0,353
<i>Escherichia coli</i>	10	83,33	0	0	2	16,66	
<i>Serratia marcescens</i>	2	100	0	0	0	0	
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	100	0	0	0	0	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	0	1	100	
Ertapenem							
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	55	100	0,003*
<i>Escherichia coli</i>	2	16,6	0	0	10	83,33	
<i>Serratia marcescens</i>	1	50	0	0	1	50	
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	0	0	1	100	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	0	1	100	
İmipenem							
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	7,2	16	29,2	35	63,6	p<0,001*
<i>Escherichia coli</i>	8	66,6	2	16,7	2	16,7	
<i>Serratia marcescens</i>	1	50	0	0	1	50	
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	100	0	0	0	0	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	0	1	100	
Meropenem							
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	12,7	2	3,6	46	83,7	p<0,001*
<i>Escherichia coli</i>	9	75	1	8,3	2	16,7	
<i>Serratia marcescens</i>	1	50	1	50	0	0	
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	100	0	0	0	0	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	0	1	100	

* Exact test; a:0,05 *bakteri türlerine göre antibiyotiğin direnç ve duyarlılık dağılımı farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı

Tablo 11. Çalışmada kullanılan iki yöntemin sonuçlarının karşılaştırılması

		BD MAX™ CPO (PCR)				
		OXA	OXA + NDM	NDM	Negatif	Toplam
CPO panel (NMIC-505)	Class D	43	2	-	3	48
	Class B	1	4	-	1	6
	Carbapenemase producer	8	1	-	-	9
	Negatif	8	-	-	-	8
	Toplam	60	7	-	4	71

Date/Time: 3/26/2020 12:38:09 PM
Username: ADMIN

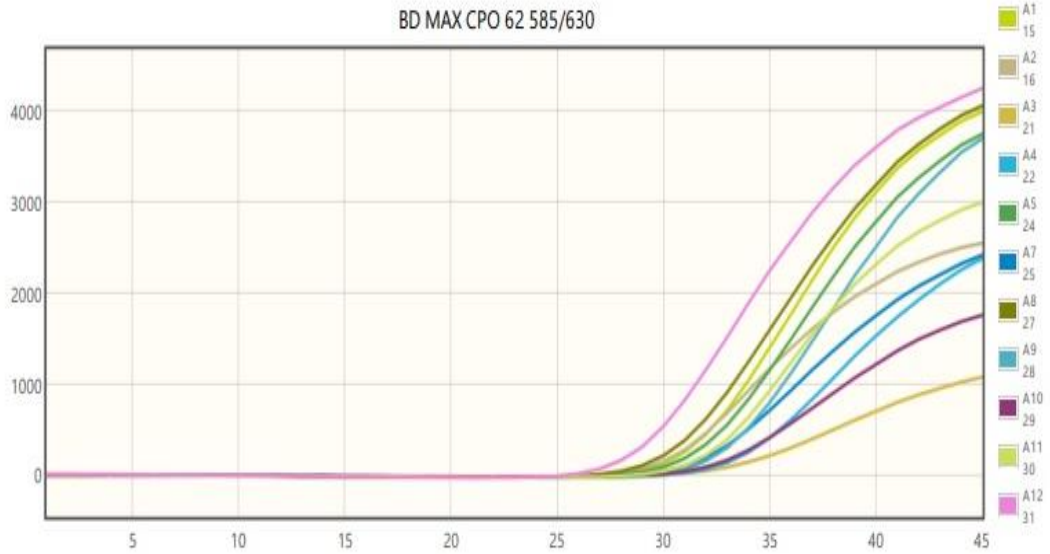
Run Report: 41

Instrument #: CT0524(1)
Version #: V5.04 A

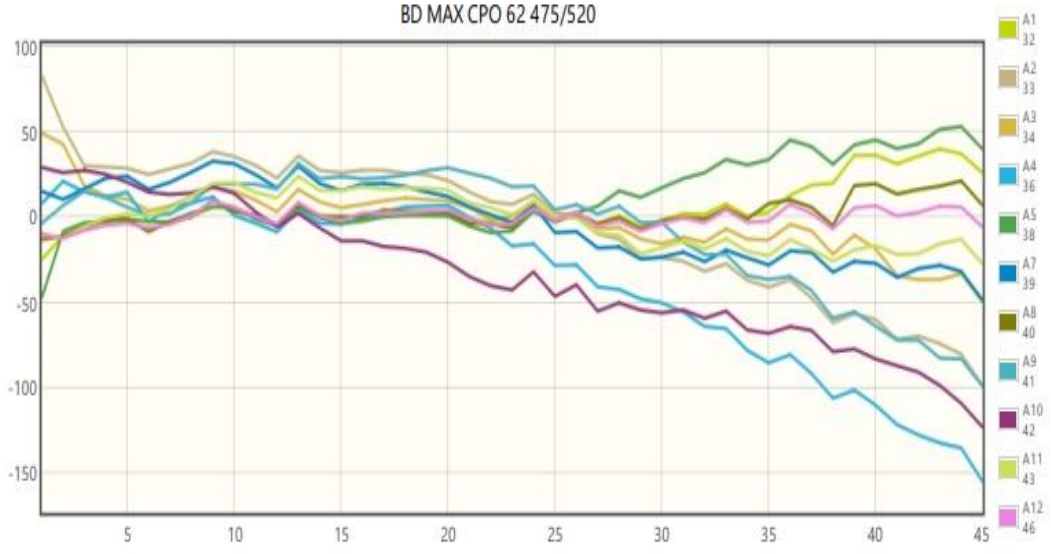
Run 41: 07.10.2022 3. cpo2

Position	Test Name	Sample Tube	Patient ID	Result	Ct 475/520	Ct 530/565	Ct 585/630	Ct 630/665	Ct 680/715
SP Status		PCR Status	Accession		Melt 475/520	Melt 530/565	Melt 585/630	Melt 630/665	Melt 680/715
Kit Lot		Cartridge Barcode	Master Mix Lot						
A1	BD MAX CPO 62	B36001669220210422BN16	--	OXA POS NDM NEG	-1.0	-1.0	31.6	-1.0	30.6
Success		Success	15	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						
A2	BD MAX CPO 62	B36001669220210422BN15	--	OXA POS NDM NEG	-1.0	-1.0	31.5	-1.0	30.6
Success		Success	16	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						
A3	BD MAX CPO 62	B36001669220210422BN14	--	OXA NEG NDM NEG	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	34.8
Success		Success	21	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						
A4	BD MAX CPO 62	B36001669220210422BN13	--	OXA POS NDM NEG	-1.0	-1.0	34.8	-1.0	30.7
Success		Success	22	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						
A5	BD MAX CPO 62	B36001669220210422BN12	--	OXA POS NDM NEG	-1.0	-1.0	32.2	-1.0	30.3
Success		Success	24	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						
A7	BD MAX CPO 62	B36001669220210422BN11	--	OXA POS NDM NEG	-1.0	-1.0	33.3	-1.0	30.9
Success		Success	25	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						
A8	BD MAX CPO 62	B36001669220210422BN10	--	OXA POS NDM NEG	-1.0	-1.0	30.9	-1.0	30.0
Success		Success	27	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						
A9	BD MAX CPO 62	B36001669220210422BN09	--	OXA POS NDM POS	-1.0	-1.0	33.3	42.2	30.3
Success		Success	28	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						
A10	BD MAX CPO 62	B36001669220210422BN08	--	OXA POS NDM NEG	-1.0	-1.0	34.8	-1.0	31.1
Success		Success	29	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						
A11	BD MAX CPO 62	B36001669220210422BN07	--	OXA POS NDM NEG	-1.0	-1.0	32.8	-1.0	30.5
Success		Success	30	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						
A12	BD MAX CPO 62	B36000956320210419AT83	--	OXA POS NDM NEG	-1.0	-1.0	29.3	-1.0	30.4
Success		Success	31	KPC NEG VIM and or IMP NEG	--	--	--	--	--
--		C24112586720230525AS33	--						

Şekil 5. BD MAX™ CPO çalışma sonucu rapor örneği



Şekil 6. BD MAX™ CPO çalışma sonucu OXA-48 pozitif real time PCR eğrileri



Şekil 7. BD MAXTM CPO çalışma sonucu KPC negatif real time PCR eğrileri

5. TARTIŞMA

Günümüzde artan karbapenem direnci önemli bir halk sağlığı sorunu durumuna gelmiştir. Karbapenemler geniş spektruma sahip olmaları ve düşük yan etki profilleri nedeniyle özellikle Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Karbapenem direnç oranları her geçen gün artmakta ve tedavi için klinisyenler zor durumda kalmaktadır.

Karbapenem direnç oranları ile ilgili ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında; Tümtürk ve ark. 2014-2017 yılları arasında yaptıkları çalışmada dört yıllık karbapenem direnç oranlarını karşılaştırmıştır. Karbapenem direnci *E.coli* için 2014 yılında % 4,1 iken bu oran 2017 yılında % 7,5 olarak belirlenmiştir. Yine aynı şekilde *K.pneumoniae* için karbapenem direnci 2014 yılında % 32,2 iken bu oran 2017 yılında % 48,9 olarak bulunmuştur. *K.pneumoniae* için dört yıllık artış oranının istatistiksel olarak anlamlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır (62).

Çaycı ve ark. 2020 yılında yayınladıkları çalışmada Enterobacterales türlerinin 2015-2018 yılları arasındaki antimikrobiyal direnç oranlarını karşılaştırmışlardır. *K.pneumoniae* izolatlarında meropenem direnç oranlarının % 8-15 aralığında, ertapenem direnç oranlarının % 25-32 aralığında, imipenem direnç oranlarının % 4-14 aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle 2017-2018 yılları arasında karbapenem direncinde büyük oranda artış olduğu sonucuna ulaşılmıştır (63).

Telli yaptığı çalışmada, 2012-2020 yılları arasında izole ettiği 3899 *K.pneumoniae* türünde karbapenem direnç oranlarını araştırmıştır. *K.pneumoniae* izolatlarında karbapenem direnç oranının toplamda % 7,5 olduğunu bildirmiştir. 2012 yılında % 0,6 olan karbapenem direnç oranının 2020 yılında % 14,2'ye kadar yükseldiğini bildirmiştir. Direnç oranlarının yükselmesine rağmen ülkemizdeki direnç oranlarına kıyasla daha düşük olduğunu bildirmiştir (64).

Öztaş ve ark. 2017-2021 yılları arasında yaptıkları çalışmaya 3738 *K.pneumoniae* izolatını dahil etmişlerdir. Bu izolatlarda en az bir karbapenem türüne olan direnç oranını % 18,9 (n=709) olarak bildirmişlerdir. Karbapenem direnç oranlarının her geçen yıl arttığını ve aktif sürveyans programları ile karbapenem direncinin takip edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (65).

Yurt dışından yapılan çalışmalara bakıldığında Oli ve ark. çalışmalarında karbapeneme dirençli *Enterobacterales* izolatlarını incelemişlerdir. Karbapeneme direnç oranlarını *K.pneumoniae* için % 18,9, *E.coli* için % 20,6, *K.oxytoca* için % 75 olarak bildirmişlerdir. Genel toplama bakıldığında 78 hastanın % 28,2'sinde karbapeneme dirençli *Enterobacterales* türünün ürediğini bildirmişlerdir (66).

Kelly ve ark. yaptıkları çalışmada 15 farklı araştırmayı dahil ederek karbapenem dirençli *Enterobacterales* türlerinin epidemiyolojisini araştırmışlardır. Çalışmaya farklı kıtalardan yapılan çalışmalar dahil edilmiştir. Çalışma sonucunda karbapenem dirençli *Enterobacterales* sıklığının % 0-29,5 arasında değiştiğini, dirençli izolatların en sık Asya kıtasında görüldüğünü ve yayılımının genellikle plazmid aracılığı ile olduğunu bildirmişlerdir (67).

Yapılan çalışmalar göstermektedir ki *Enterobacterales* türlerinde karbapenem direnç oranları ülkemizde olduğu gibi tüm dünyada giderek artmaktadır. Yurt içinde ve yurt dışında yapılan çalışmalarda karbapenem direnç oranlarının % 0-30 arasında olduğu anlaşılmaktadır. Bizim çalışmamızda meropenem direnç oranı % 69, imipenem direnç oranı %55 bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada karbapenem direnç oranları diğer çalışmalara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Ancak çalışmamıza karbapenemaz üreten suşların seçilmesinden dolayı oranların yüksek çıkması beklenen bir sonuç olarak düşünülmüştür.

Karbapenemlere direnç oranlarının yükselmesi klinisyenleri ve bilim adamları yeni antibiyotik türlerini keşfetmeye yönlendirmiştir. Bunlar arasında seftazidim avibaktam ülkemizde de kullanılabilen yeni antibiyotik kombinasyonlarından birisidir. Seftazidim avibaktamla ilgili ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında; Öztaş ve ark. yaptıkları çalışmaya karbapeneme dirençli 709 *K.pneumoniae* izolatını dahil etmiştir. Çalışma sonucunda seftazidim avibaktam duyarlılığının % 77,5 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca seftazidim /avibaktam ve kolistin, karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatlarına karşı en etkili antibiyotikler olarak bildirilmiştir (65).

Güzel ve ark. yaptıkları çalışmaya toplam 1221 *K.pneumoniae* ve *E.coli* izolatını dahil etmişlerdir. Bu izolatlardan 80 tanesinin en az bir karbapeneme dirençli olduğu bildirilmiştir. Karbapeneme dirençli suşlarda seftazidim avibaktam duyarlılığının %77 ve seftolozan tazobaktam duyarlılığının % 48 olduğu bildirilmiştir (68).

Hoşbul ve ark. yaptıkları çalışmada karbapeneme dirençli 150 *K.pneumoniae* izolatında seftazidim avibaktam duyarlılığını sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle incelemişlerdir. Bu çalışmada seftazidim avibaktam için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerinin sırasıyla 1 µg/ml ve 8 µg/ml olduğunu, duyarlılık oranının % 92,7 (n=139) olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada kolistin direnç oranlarının yükselmesi nedeniyle seftazidim avibaktamın iyi bir tedavi alternatifi olduğu ve direnç gelişiminin önlenmesi için akılcı antibiyotik kullanım ilkelerine uyulmasının önemi vurgulanmıştır (69).

Özger ve ark. yaptıkları çalışmada seftazidim avibaktam duyarlılığını sıvı mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemiyle değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda toplam 84 izolatın % 95,2'sinin seftazidim avibaktama duyarlı olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonuçları her iki değerlendirme yönteminde de aynı bulunmuştur. Seftazidim avibaktamın özellikle kolistin dirençli izolatlar için iyi bir alternatif olduğu vurgulanmıştır (70).

Yurt dışında yapılan çalışmalara bakıldığında; Zhang ve ark. yaptıkları çalışmada 872 karbapeneme dirençli *K.pneumoniae* izolatında seftazidim avibaktam duyarlılığını incelemişlerdir. Agar dilüsyon metoduyla çalışılan seftazidim avibaktam duyarlılığının % 96,3 olduğunu (n=840) bildirmişlerdir. Seftazidim avibaktam için MİK aralığının 0.0625 - >128 mg/L olduğunu, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerinin sırasıyla 4 mg/L ve 8 mg/L olarak bildirmişlerdir (71).

Chatzidimitriou ve ark. yaptıkları çalışmada 47 *K.pneumoniae* izolatında seftazidim avibaktam ve diğer antibiyotiklerin duyarlılıklarını incelemişlerdir. Seftazidim avibaktam duyarlılığı disk difüzyon yöntemiyle değerlendirilmiştir. Seftazidim avibaktamın duyarlılık oranının % 76,5 olduğunu (n=36), seftazidim avibaktamın diğer antibiyotikler içerisinde en yüksek duyarlılık oranına sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada seftazidim avibaktam ve eravasiklin gibi yeni antibiyotiklerin karbapenem dirençli *Enterobacterales* türlerinin neden olduğu invaziv enfeksiyonlarda güvenilir bir seçenek olduğu vurgulanmıştır (72).

Pierard ve Stone yaptıkları çalışmada 51 farklı ülkeden topladıkları verilerle solunum yolu örneklerinde üreyen mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Toplam 15460 izolatın dahil edildiği çalışmada 10128 tanesinin *Enterobacterales* üyesi olduğunu bildirmişlerdir. *Enterobacterales* türlerinde seftazidim avibaktamın duyarlılık oranlarını Afrika ve Orta Doğu için % 99, Asya için

% 96,9, Avrupa için % 98,5, Latin Amerika için % 99,6 olarak bulunmuştur. Seftazidim avibaktamın MİK₉₀ değerinin Asya için 1 mg/L, diğer bölgeler için 0,5 mg/L olduğu bildirilmiştir (73).

Yaptığımız çalışmada seftazidim avibaktamın 71 izolatın 63'ünde (% 88,7) duyarlı olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdaki seftazidim avibaktam duyarlılık oranının ülkemizde ve yurt dışında yapılan çalışmalara kıyasla benzer olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda seftazidim avibaktam duyarlılığının belirlenmesi için BD CPO panel (NMIC 505) kullanılmıştır. Diğer çalışmalarda genellikle disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Çalışmamızın diğer çalışmalarla benzer duyarlılık oranlarına sahip olması CPO panelin diğer yöntemlere alternatif olabileceğini göstermektedir.

Karbapenem dirençli *Enterobacterales* türlerinin yaygınlaşması nedeniyle enfeksiyon kontrol önlemleri daha önemli hale gelmiştir. Özellikle türler arasında bile transpozon ve plazmid aracılığıyla geçebilen direnç genlerinin keşfedilmesi gen bölgesi tayini yapan moleküler testleri daha önemli hale getirmiştir. Ülkemizde ve dünyada karbapenem direnç genleri ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Güzel ve ark. yaptıkları çalışmada toplamda 80 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* ve *E.coli* izolatlarını incelemişlerdir. Bu çalışma sonucunda 45 izolatta OXA-48 geni, dört izolatta VIM, altı izolatta NDM, dört izolatta OXA-48 ile birlikte VIM, iki izolatta OXA-48 ile birlikte NDM direnç geni saptanmıştır. Karbapenem dirençli 19 izolatta herhangi bir direnç geni saptanmamıştır (68).

Hoşbul ve ark. yaptıkları çalışmaya 150 karbapeneme dirençli *K.pneumoniae* izolatını dahil etmişlerdir. Yapılan çalışma sonunda 107 izolatta OXA-48, 25 izolatta KPC, 10 izolatta hem OXA-48 hem KPC, yedi izolatta NDM, bir izolatta hem OXA-48 hem NDM direnç geni pozitif bulunmuştur (69).

Telli yaptığı çalışmaya 291 karbapeneme dirençli *K.pneumoniae* izolatını dahil etmiştir. 2012 yılından 2020 yılına kadar toplanan izolatların direnç genleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 291 izolattan 123 tanesinin hem OXA-48 hem NDM, 113'ünün OXA-48, 32'sinin NDM, yedisinin KPC, beşinin VIM, ikisinin hem OXA hem KPC geninin pozitif olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu çalışmada karbapenem direnç genlerine sahip izolatların yıllara göre dağılımına bakıldığında çoğunun son

yıllarda (2018, 2019 ve 2020) olduğu belirlenmiştir. Direnç genleri için epidemiyolojik çalışmaların ve ulusal taramaların önemi vurgulanmıştır (64).

Durmuş yaptığı uzmanlık tezinde 87 *K.pneumoniae* izolatını çalışmasına dahil etmiştir. Yapılan çalışma sonucunda toplamda 87 izolatın 60'ında OXA-48, 20'sinde NDM, beşinde hem OXA-48 hem NDM, bir örnekte KPC direnç geni pozitif bulunmuştur. Bir izolatta PCR ile direnç geni saptanamamıştır. Aynı çalışmada OXA-48 direnç genlerinin yıllar içinde daha az tespit edildiği ve NDM'nin giderek arttığı bildirilmiştir (74).

Yurt dışından yapılan çalışmalara bakıldığında Duin ve Doi yaptığı çalışmada karbapenemaz üreten *Enterobacterales* türlerinin küresel epidemiyolojisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda ABD'de en sık görülen karbapenemaz direnç geninin KPC olduğu bildirilmiştir. B sınıfı metallo-beta-laktamazların en sık Hindistan civarı olmak üzere Avrupa'da da Romanya, Danimarka, İspanya ve Macaristan'da yaygın olduğu bildirilmiştir. OXA-48 benzeri direnç geni üretiminin merkezinin Türkiye ve çevresinde bulunan ülkeler olduğu bildirilmiştir. Çalışmada bu tarzda çalışmalar yapılmasının bu patojenlerin yayılmasını engellemek açısından önemli olduğu vurgulanmıştır (75).

Wang ve ark. yaptıkları çalışmaya farklı ülkelere topladıkları 991 *K.pneumoniae* izolatını dahil etmişlerdir. Bu izolatların 888'inde (%90) karbapenemaz üretimi olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda Çin'de en fazla saptanan karbapenemaz geninin % 94 ile KPC-2 olduğunu, Güney Amerika'da en fazla saptanan karbapenemaz geninin % 39 ve % 30 ile KPC-2 ve KPC-3 olduğunu, ABD'de en fazla saptanan karbapenemaz geninin % 44 ve % 37 ile KPC-2 ve KPC-3 olduğunu bildirmişlerdir. Avusturalya, Lübnan ve Singapur'dan gelen izolatlarda en fazla saptanan direnç geninin % 48 ile OXA-48 olduğu bildirilmiştir (76).

Cienfuegos-Gallet ve ark. Çin'de yaptıkları çalışmaya 147 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatını dahil etmişlerdir. Yapılan çalışma sonrasında en fazla saptanan direnç genlerinin % 66 ile KPC ve % 18 ile NDM olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada aynı direnç genini üreten izolatların aynı klona ait olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak klonlar arasında direnç geni geçişinin önlenmesinin önemi vurgulanmıştır (77).

Bizim çalışmamızda moleküler test sonuçları yukarıdaki çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Literatürdeki çalışmalar ve yaptığımız çalışma göstermektedir ki

ülkemizde en fazla görünen karbapenemaz direnç geni OXA-48'dir. Çalışmamıza alınan 71 izolatın 60'ının (% 84,5) OXA-48 direnç geni pozitif, yedisinin (% 9,8) hem OXA-48 hem NDM direnç geni pozitif, dördünün (% 5,6) ise tüm direnç genleri negatif olarak bulunmuştur. Çalışmamızda izolatların hiçbirinde KPC ve VIM/IPM direnç geni saptanmamıştır.

BD CPO panel (NMIC 505) karbapenemaz tespitinde kullanılabilen otomatize sistem yöntemlerinden birisidir. Ambler sınıflamasına göre karbapenemazı aynı anda saptayabilirken, antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları vermesi gibi avantajları vardır. CPO panel ile yapılan çalışmalara bakıldığında; Özkan ve ark. yaptıkları çalışmada CPO panel ile moleküler yöntemin karbapenemaz saptamasını karşılaştırmışlardır. PCR ile karbapenemaz üreten toplam 72 *K.pneumoniae* ve *E.coli* izolatı ile karbapenemaz üretmeyen 16 *K.pneumoniae* ve *E.coli* izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada PCR ve CPO panel uyumu % 97,7 olarak bulunmuştur. Toplam 88 izolatın 86'sında CPO panelin, PCR yöntemiyle aynı sonucu verdiği bildirilmiştir (55).

Park ve ark. Güney Kore'de yaptıkları çalışmayla BD CPO panelin karbapenemaz saptanmasındaki doğruluğu araştırmışlardır. Yapılan çalışmaya *Enterobacterales* türleri ve nonfermantatif bakterilerden oluşan toplam 250 izolat dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan 250 izolatın 243'ünde (% 97,2) karbapenemaz üretimi olduğu bildirilmiştir. BD CPO panelin karbapenemazların doğru sınıflandırma oranı toplamda % 73 olarak (n=184) bildirilmiştir. Çalışmaya alınan izolatların % 7,6'sının (n=17) yanlış sınıflandırıldığını, %16'sının (n=40) ise sınıflandırılmayıp "carbapenemase producer" şeklinde raporlandığı bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada A sınıfı karbapenemazların doğru saptanma oranı % 81,7, B sınıfı karbapenemazların doğru saptanma oranı %71,8 ve D sınıfı karbapenemazların doğru saptanma oranı % 82 olarak bildirilmiştir (78).

Ong ve ark. yaptıkları çalışmada CPO panelin karbapenemaz saptanmasındaki etkinliğini moleküler yöntem ile karşılaştırmışlardır. Çalışmada büyük bölümü *K.pneumoniae* ve *E.cloacae* olmak üzere 160 *Enterobacterales* türünün karbapenemaz üretimi araştırılmıştır. CPO panelin karbapenemaz saptanmasındaki duyarlılık oranı % 89,4 ve özgüllüğü % 66,7 olarak belirlenmiştir. Çalışmada CPO panelin NDM ve OXA tiplerini saptamada yüksek duyarlılığa sahip olduğu, ancak A sınıfı non-metallo-beta-laktamaz olan imipenemaz tespitinde duyarlılığının düşük olduğu (% 30) bildirilmiştir.

Ayrıca çalışmada birden fazla tipte karbapenemaz üreten izolatların saptanmasında CPO panelin yeterli olmadığı bildirilmiştir (79).

Croxatto ve ark. yaptıkları çalışmada *Enterobacterales* ve nonfermantatif bakterilerdeki karbapenemaz saptanmasını CPO panel ile incelemişlerdir. Toplam 90 izolatın dahil edildiği çalışmada CPO panelin 90 izolatın 74'ünde (% 82.2) karbapenemaz tiplerini doğru sınıflandırdığı bildirilmiştir. Çalışmaya alınan 16 izolatta (% 17,8) sınıflandırılmayan karbapenemaz üretimi olduğu bildirilmiştir. CPO panelin *Enterobacterales* ve nonfermantatif bakterilerdeki karbapenemaz üretimini tespit etme başarısı benzer bulunmuştur. *Enterobacterales* türleri için bu oran % 82,4, nonfermantatif bakteriler için % 81,4 bulunmuştur. Çalışma sonucunda CPO panelin yüksek duyarlılığa sahip olduğu ancak özgüllüğünün düşük olması sebebiyle pozitif izolatların doğrulanması gerektiği bildirilmiştir (80).

Almanya'da yapılan bir çalışmada CPO panelin *Enterobacterales* ve nonfermantatif türlerdeki karbapenemaz üretiminin saptanması ve tiplendirmesi incelenmiştir. Çalışmaya toplamda 194 izolat dahil edilmiştir. Karbapenemaz üretimi açısından PCR ile 194 izolatın 115'i pozitif, 79'u negatif bulunmuştur. CPO panelin karbapenemaz üretimini saptama duyarlılığı % 98 ve özgüllüğü %17 bulunmuştur. Sınıflandırma açısından bakıldığında *Enterobacterales* türleri için % 79, nonfermantatif basiller için % 67, toplamda % 73 oranında doğru sınıflandırma yaptığı bildirilmiştir (81).

Çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar yurt dışındaki çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Çalışmamızda PCR ile sadece OXA pozitif bulunan 60 izolatın 43'ü (% 71,6) CPO panelde Class D olarak doğru tanımlanmıştır. PCR testiyle negatif olarak tanımlanan dört izolat CPO panelinde karbapenemaz üreticisi olarak yanlış pozitif raporlanmıştır. Yine yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde birden fazla türde karbapenemaz üreten izolatlarda CPO panelinin yetersiz olduğu belirlenmiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Karbapenem grubu antibiyotikler özellikle *Enterobacterales* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu durum karbapenem direnç oranlarında artış ile sonuçlanmaktadır. Karbapenem grubu antibiyotikler kullanılırken daha dikkatli olunmalı, akılcı antibiyotik kullanım ilkelerine uygun hareket edilmelidir. Dirençli enfeksiyonların yaygınlaşmasının önlenmesi için enfeksiyon kontrol önlemlerine özen gösterilmelidir. Özellikle transpozon ve plazmid aracılığıyla geçiş gösteren karbapenem direnç genleri saptanmasıyla karbapenemaz tespitinde kullanılan fenotipik ve moleküler yöntemler önem kazanmıştır. Kullanılacak yöntemin fenotipik yöntemler gibi kolay uygulanabilir ve ucuz, moleküler yöntemler gibi net sonuçlar vermesi gereklidir. Çalışmamızda kullanılan CPO panel incelendiğinde aynı anda hem ADT hem Ambler sınıflandırmasına göre karbapenemaz tayini yapabilmesi yöntemin avantajları arasında yer almaktadır. Ülkemizde kullanılan yeni antibiyotiklerden olan seftazidim avibaktamı içermesi önemlidir. Ayrıca tüm panellerde bulunmayan tobramisin, seftolozan tazobaktam, ofloksasin gibi antibiyotikleri de içermektedir. Sonuç olarak çalışmasının kolay olması, aynı gün içerisinde hem karbapenemaz hem ADT sonucu vermesi, moleküler yöntemle göre ucuz olması, yetkin personel gerektirmemesi, yeni nesil antibiyotikler içermesi CPO paneli kullanılabilir kılmaktadır. Ancak birden fazla gen bölgesi içeren türlerde yetersiz kalması, duyarlılık ve özgüllüğünün düşük olması, normal panellere göre maliyetinin yüksek olması gibi dezavantajları mevcuttur. CPO panel ile alınan negatif sonuçların moleküler yöntemlerle doğrulanması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Donnenberg MS. Enterobacteriaceae. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases: Elsevier; 2015. p. 2503-17. e5.
2. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology: Jones & Bartlett Publishers; 2020.
3. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2001;45(4):1151-61.
4. Kiliç Ü, Demiray T, Altindış M. Karbapenemaz Üreten Enterobacteriaceae İzolatlarının Saptanmasında Fenotipik Ve Genotipik Metotlar. Ankem Derg. 2016;30(2):62-75.
5. Stuart JC, Leverstein-Van Hall MA, Detection DWP. Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae. International Journal of Antimicrobial Agents. 2010;36(3):205-10.
6. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology E-book: Elsevier Health Sciences; 2020.
7. Adeolu M, Alnajar S, Naushad S, R SG. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2016;66(12):5575-99.
8. Ustaçelebi Ş MG, İmir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. İç: Erdem B. Enterobacteriaceae. Ankara: Güneş Kitabevi. 1999;11:471-515.
9. Murray PR BE, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Çev. Ed. Başustaoglu A. Klinik mikrobiyoloji. Manual of clinical microbiology. . İç: Farmer JJ, Boatwright KD, Janda JM Çev Aktepe O Enterobacteriaceae: Giriş ve Tanımlama. 2009;42:649-69.

10. Wilke Topçu A SG, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi-Etkenlere Göre Enfeksiyonlar. 1 Cilt. 2008;İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi:227-33, 46-50, 88-93.
11. Akova M, Kayaalp S. Beta-laktam Antibiyotikler. Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 2012;Pelikan Yayıncılık.(13.Baskı):183-216.
12. Gulay Z. Beta-Laktamlara ve Karbapenemlere Direnç Mekanizmalar, Antibiyotiklere Direnç. Hastane İnfeksiyonları Dergisi. 2001;5(3):210-29.
13. Poole K. Resistance to beta-lactam antibiotics. Cellular and molecular life sciences : CMLS. 2004;61(17):2200-23.
14. Majiduddin FK, Materon IC, Palzkill TG. Molecular analysis of beta-lactamase structure and function. International journal of medical microbiology : IJMM. 2002;292(2):127-37.
15. Dağlar D, Öngüt G. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar GSBL ve Tanı Yöntemleri. Annals of Health Sciences Research. 2012;1(1):1-9.
16. Rood IG, Li Q. Molecular detection of extended spectrum- β -lactamase-and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a clinical setting. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2017;89(3):245-50.
17. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2010;54(3):969-76.
18. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1995;39(6):1211-33.
19. Jacoby GA. AmpC β -lactamases. Clinical microbiology reviews. 2009;22(1):161-82.
20. Hall BG, Barlow M. Revised Ambler classification of β -lactamases. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005;55(6):1050-1.
21. Thomson KS, Moland ES. Version 2000: the new β -lactamases of Gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. Microbes and infection. 2000;2(10):1225-35.
22. Şenol E. Karbapenemlerin Yeni Açılımları. Ankem Derg. 2009;23(10):14-6.

23. Mülazımoğlu L. 1986'dan günümüze karbapenemler. *Ankem Derg.* 2010;24(10):33-5.
24. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends in molecular medicine.* 2012;18(5):263-72.
25. Pages JM, James CE, Winterhalter M. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology.* 2008;6(12):893-903.
26. Li XZ, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update. *Drugs.* 2009;69(12):1555-623.
27. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35(1):147-51.
28. Scaife W, Young HK, Paton RH, Amyes SG. Transferable imipenem-resistance in *Acinetobacter* species from a clinical source. *The Journal of antimicrobial chemotherapy.* 1995;36(3):585-6.
29. Martínez-Martínez L, González-López JJ. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: types and molecular epidemiology. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica.* 2014;32:4-9.
30. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(3):440-58, table of contents.
31. Aubron C, Poirel L, Ash RJ, Nordmann P. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, US rivers. *Emerging Infectious Diseases.* 2005;11(2):260-4.
32. Rasmussen BA, Bush K, Keeney D, Yang Y, Hare R, O'Gara C, et al. Characterization of IMI-1 beta-lactamase, a class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40(9):2080-6.
33. Queenan AM, Shang W, Schreckenberger P, Lolans K, Bush K, Quinn J. SME-3, a novel member of the *Serratia marcescens* SME family of carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(10):3485-7.

34. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *The Lancet Infectious diseases*. 2013;13(9):785-96.
35. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP, et al. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(4):1553-5.
36. Woodford N, Tierno PM, Jr., Young K, Tysall L, Palepou MF, Ward E, et al. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing a new carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(12):4793-9.
37. Zhao W-H, Hu Z-Q. IMP-type metallo- β -lactamases in Gram-negative bacilli: distribution, phylogeny, and association with integrons. *Critical reviews in microbiology*. 2011;37(3):214-26.
38. Riccio ML, Franceschini N, Boschi L, Caravelli B, Cornaglia G, Fontana R, et al. Characterization of the metallo- β -lactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 reveals the existence of bla IMP allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2000;44(5):1229-35.
39. Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S, et al. PCR detection of metallo-beta-lactamase gene (blaIMP) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum beta-lactams. *J Clin Microbiol*. 1996;34(12):2909-13.
40. Zhao W-H, Hu Z-Q. Epidemiology and genetics of VIM-type metallo- β -lactamases in Gram-negative bacilli. *Future microbiology*. 2011;6(3):317-33.
41. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R, et al. Cloning and characterization of bla VIM, a new integron-borne metallo- β -lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1999;43(7):1584-90.
42. Nordmann P, Poirel L, Toleman MA, Walsh TR. Does broad-spectrum β -lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of

- infections caused by Gram-negative bacteria? Journal of antimicrobial chemotherapy. 2011;66(4):689-92.
43. Zmarlicka MT, Nailor MD, Nicolau DP. Impact of the New Delhi metallo-beta-lactamase on beta-lactam antibiotics. Infection and Drug Resistance. 2015;8:297.
 44. Poirel L, Castanheira M, Carrer A, Rodriguez CP, Jones RN, Smayevsky J, et al. OXA-163, an OXA-48-related class D beta-lactamase with extended activity toward expanded-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(6):2546-51.
 45. Donald HM, Scaife W, Amyes SG, Young HK. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. Antimicrob Agents Chemother. 2000;44(1):196-9.
 46. Hartl R, Widhalm S, Kerschner H, Apfalter P. Temocillin and meropenem to discriminate resistance mechanisms leading to decreased carbapenem susceptibility with focus on OXA-48 in Enterobacteriaceae. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2013;19(5):E230-2.
 47. Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, Galani I, Giske CG, Gniadkowski M, et al. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2010;16(2):112-22.
 48. EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. 2021. Version 11.0 <http://www.eucast.org>.
 49. Patidar N, Vyas N, Sharma S, Sharma B. Phenotypic Detection of Carbapenemase Production in Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae by Modified Hodge Test and Modified Strip Carba NP Test. J Lab Physicians. 2021;13(1):14-21.
 50. Vamsi KS, Moorthy SR, Hemilamma NM, Reddy YRR, Reddy BRC, Deepak J, et al. A review of antibiotic synergy in carbapenemase-producing bacteria. Journal of Applied and Natural Science. 2022;14(1):148-62.

51. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(9):1503-7.
52. Burckhardt I, Zimmermann S. Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry To Detect Carbapenem Resistance within 1 to 2.5 Hours. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011;49(9):3321-4.
53. Hammoudi D, Moubareck CA, Sarkis DK. How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. *Journal of microbiological methods*. 2014;107:106-18.
54. Voulgari E, Poulou A, Koumaki V, Tsakris A. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: now that the storm is finally here, how will timely detection help us fight back? *Future microbiology*. 2013;8(1):27-39.
55. Özkan BG, Akpolat N, Özcan N, Bilik ÖA. Karbapenem Dirençli Klebsiella pneumoniae ve Escherichia coli İzolatlarında BD Phoenix CPO Yöntemi İle Karbapenemaz Üretiminin Tespiti: Dicle Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2021.
56. AKÇAM FZ. Karbapenem Dirençli Enterobakteriler: Nasıl Başa Çıkılır? *FLORA*. 2019;24(2):75-86.
57. Castanheira M, Farrell SE, Krause KM, Jones RN, Sader HS. Contemporary diversity of β -lactamases among Enterobacteriaceae in the nine US census regions and ceftazidime-avibactam activity tested against isolates producing the most prevalent β -lactamase groups. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(2):833-8.
58. Dhillon S. Meropenem/vaborbactam: a review in complicated urinary tract infections. *Drugs*. 2018;78(12):1259-70.
59. Blizzard TA, Chen H, Kim S, Wu J, Bodner R, Gude C, et al. Discovery of MK-7655, a β -lactamase inhibitor for combination with Primaxin®. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2014;24(3):780-5.
60. Portsmouth S, Van Veenhuizen D, Echols R, Machida M, Ferreira JCA, Ariyasu M, et al., editors. Clinical response of cefiderocol compared with imipenem/cilastatin in the treatment of adults with complicated urinary tract infections with or without pyelonephritis or acute uncomplicated pyelonephritis:

results from a multicenter, double-blind, randomized study (APEKS-cUTI). Open Forum Infectious Diseases; 2017: Oxford University Press US.

61. Simon M, Gatermann S, Pfeifer Y, Reischl U, Gessner A, Jantsch J. Evaluation of the automated BD Phoenix CPO Detect panel in combination with the beta-CARBA assay for detection and classification of carbapenemase-producing Enterobacterales. J Microbiol Methods. 2019;156:29-33.
62. Tümtürk A, Tekçe AYT, Şanal L. Nozokomiyal infeksiyon etkeni Gram negatif bakterilerde karbapenem direnç oranları: Üçüncü basamak bir hastaneden retrospektif bir çalışma. Ortadoğu Tıp Dergisi. 2019;11(4):422-6.
63. Çaycı YT, Bıyık İ, Çınar C, Birinci A. Karbapeneme dirençli Enterobacteriaceae izolatlarının 2015-2018 yılları arasındaki antibiyotik direnci. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2020;50(3):134-40.
64. Telli M. Klebsiella pneumoniae Klinik Suşlarında, 2012-2020 Yılları Arasında Karbapenem Direnç Oranlarındaki Değişimin ve Direnç Genlerinin Araştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2022:95.
65. ÖZTAŞ S, ER DK, DÜNDAR D. Karbapenemlere Dirençli ve Duyarlı Klebsiella pneumoniae İzolatlarının Çeşitli Antimikrobiyallere Direnç Oranları. Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi.8(3):229-32.
66. Oli AN, Itumo CJ, Okam PC, Ezebialu IU, Okeke KN, Ifezulike CC, et al. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Posing a Dilemma in Effective Healthcare Delivery. Antibiotics (Basel, Switzerland). 2019;8(4).
67. Kelly AM, Mathema B, Larson EL. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the community: a scoping review. Int J Antimicrob Agents. 2017;50(2):127-34.
68. GÜZEL M, Duygu Ö, ÖNDER İT, AKDOĞAN D, ERDEM GB, AKPINAR O. Comparison of in Vitro Antimicrobial Efficacy of Ceftolozane-Tazobactam and Ceftazidime-Avibactam Combination Against Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Species Isolated from Various Clinical Specimens. Konuralp Medical Journal. 2022;14(1):75-80.
69. Hoşbul T, Aydoğan CN, Kaya S, Bedir O, Gümrall R, Albay A. In Vitro Activity of Ceftazidime-avibactam and Colistin Against Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae Clinical Isolates. Mikrobiyoloji Bulteni. 2022;56(2):218-29.

70. Ozger HS, Evren E, Yildiz SS, Erol C, Bayrakdar F, Azap O, et al. Ceftazidime - Avibactam susceptibility among carbapenem-resistant Enterobacterales in a pilot study in Turkey. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*. 2021.
71. Zhang P, Shi Q, Hu H, Hong B, Wu X, Du X, et al. Emergence of ceftazidime/avibactam resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2020;26(1):124 e1- e4.
72. Chatzidimitriou M, Chatzivasileiou P, Sakellariou G, Kyriazidi M, Kavvada A, Chatzidimitriou D, et al. Ceftazidime/avibactam and eravacycline susceptibility of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in two Greek tertiary teaching hospitals. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*. 2021;68(2):65-72.
73. Pierard D, Stone GG. In vitro antimicrobial susceptibility of clinical respiratory isolates to ceftazidime-avibactam and comparators (2016-2018). *BMC infectious diseases*. 2021;21(1):600.
74. Durmuş DMA. *Klebsiella Pneumoniae* Suşlarında Karbapenem Direncinin Fenotipik Ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi. 2017:25.
75. van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Virulence*. 2017;8(4):460-9.
76. Wang M, Earley M, Chen L, Hanson BM, Yu Y, Liu Z, et al. Clinical outcomes and bacterial characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* complex among patients from different global regions (CRACKLE-2): a prospective, multicentre, cohort study. *The Lancet Infectious diseases*. 2022;22(3):401-12.
77. Cienfuegos-Gallet AV, Zhou Y, Ai W, Kreiswirth BN, Yu F, Chen L. Multicenter Genomic Analysis of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* from Bacteremia in China. *Microbiology spectrum*. 2022;10(2):e0229021.
78. Park BY, Mourad D, Hong JS, Yoon EJ, Kim D, Lee H, et al. Performance Evaluation of the Newly Developed BD Phoenix NMIC-500 Panel Using Clinical

- Isolates of Gram-Negative Bacilli. *Annals of Laboratory Medicine*. 2019;39(5):470-7.
79. Ong CH, Ratnayake L, Ang MLT, Lin RTP, Chan DSG. Diagnostic Accuracy of BD Phoenix CPO Detect for Carbapenemase Production in 190 Enterobacteriaceae Isolates. *J Clin Microbiol*. 2018;56(12):e01043-18.
80. Croxatto A, Coste AT, Pillonel T, Bertelli C, Greub G, Prod'homme G. Evaluation of the BD Phoenix (TM) CPO Detect Test for the detection of carbapenemase producers. *Clinical Microbiology and Infection*. 2020;26(5):644. e9-. e15.
81. Berneking L, Both A, Berinson B, Hoffmann A, Lutgehetmann M, Aepfelbacher M, et al. Performance of the BD Phoenix CPO detect assay for detection and classification of carbapenemase-producing organisms. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2021;40(5):979-85.

8. TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Enterobacterales</i> takımındaki üyeler	4
Tablo 2. Bakteriyel beta laktamazların sınıflandırılması	14
Tablo 3. Karbapenemazların sınıflandırılması	19
Tablo 4. EUCAST Karbapenemler Sınır Değer Tablosu	24
Tablo 5. Üreyen mikroorganizmaların dağılımı [n (%)]*	35
Tablo 6. İzolatların kliniklere göre dağılımı [n (%)]*	35
Tablo 7. İzole edilen mikroorganizmaların örneklerle göre dağılımı [n (%)]*	36
Tablo 8. İzole edilen mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları - 1	38
Tablo 9. İzole edilen mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları - 2	39
Tablo 10. Seftazidim avibaktam ve karbapenem grubu antibiyotiklerin bakteri türlerine göre duyarlılıklarının dağılımı	40
Tablo 11. Çalışmada kullanılan iki yöntemin sonuçlarının karşılaştırılması	40

9. ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. BD Phoenix™ M50 otomatize sistem cihazı	30
Şekil 2. BD Phoenix CPO panel (NMIC-505)	32
Şekil 3. BD MAX™ Cihazı	33
Şekil 4. BD MAX™ CPO kiti	34
Şekil 5. BD MAX™ CPO çalışma sonucu rapor örneği	41
Şekil 6. BD MAX™ CPO çalışma sonucu OXA-48 pozitif real time PCR eğrileri	41
Şekil 7. BD MAX™ CPO çalışma sonucu KPC negatif real time PCR eğrileri.....	42

